



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E
CONSERVAÇÃO



**FORMIGAS ASSOCIADAS A *Turnera subulata* (TURNERACEAE):
CUSTOS E/OU BENEFÍCIOS PARA PLANTA HOSPEDEIRA?**

Nayara Gomes da Cruz

Mestrado Acadêmico

São Cristóvão
Sergipe – Brasil
2016

Nayara Gomes da Cruz

**FORMIGAS ASSOCIADAS A *Turnera subulata* (TURNERACEAE):
CUSTOS E/OU BENEFÍCIOS PARA PLANTA HOSPEDEIRA?**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal de Sergipe, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ecologia.

Orientadora: Dr.^a Ana Paula Albano Araújo

São Cristóvão
Sergipe – Brasil
2016

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

C957f Cruz, Nayara Gomes da
Formigas associadas a *Turnera subulata* (Turneraceae): custos e/ou benefícios para planta hospedeira? / Nayara Gomes da Cruz ; orientador Ana Paula Albano Araújo. – São Cristóvão, 2016.
73 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ecologia e Conservação) – Universidade Federal de Sergipe, 2016.

1. Ecologia vegetal. 2. Plantas hospedeiras. 3. Formigas. 4. Relação hospedeiro-parasito. I. Araújo, Ana Paula Albano, orient. II. Título.

CDU 581.5:638.4

TERMO DE APROVAÇÃO

FORMIGAS ASSOCIADAS A *Turnera subulata* (TURNERACEAE): CUSTOS E/OU BENEFÍCIOS PARA PLANTA HOSPEDEIRA?

por

NAYARA GOMES DA CRUZ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal de Sergipe, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

APROVADA pela banca examinadora composta por



DR^a ANA PAULA ALBANO ARAÚJO

Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da
Universidade Federal de Sergipe



DR. GENÉSIO TÂMARA RIBEIRO

Universidade Federal de Sergipe



DR. LEANDRO BACCI

Universidade Federal de Sergipe

São Cristóvão/SE, 25 de fevereiro de 2016

Aos meus avós paternos (*in memorian*).
E aos meus amados pais, por toda dedicação e amor.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal de Sergipe (UFS) pela oportunidade e infraestrutura disponibilizada.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação (PPEC) por todo suporte.

Aos colegas do Laboratório Clínica Fitossanitária que ajudaram com os experimentos: Abraão, Ana Paula, Alexandre, Alisson, Emile e Ruan. Obrigada por toda colaboração e convivência agradável. Vocês tornaram possível o trabalho em equipe!

Aos amigos do Laboratório de Interações Ecológicas: Camilla, Efrem e Léo. Em especial, agradeço à Camilla, mais que uma amiga, tornou-se uma irmã de coração. Obrigada pela amizade sincera, apoio e companheirismo durante toda jornada de graduação e pós!

À professora Ana Paula Albano Araújo pela oportunidade, orientação, dedicação, críticas e por todos os ensinamentos transmitidos, tanto para crescimento profissional quanto pessoal. Muito obrigada por tudo!

Ao professor Leandro Bacci pela sugestão do sistema estudado nesta dissertação, discussão de ideias, ajuda em campo e concessão da sua equipe para realização dos experimentos. Muito obrigada!

Ao professor Paulo Cristaldo pela coorientação e por todo auxílio.

Aos membros da banca pelas sugestões ao trabalho.

À doutoranda Gabriela Camacho pela identificação das espécies de formigas.

Aos professores da graduação e pós da Ecologia pelos ensinamentos.

À minha amada mãe, por ser o meu grande exemplo de ser humano. Obrigada por todo amor, dedicação e por me ensinar o valor dos bens mais preciosos da vida! Ao meu querido pai, pelo carinho, ensinamentos e indescritíveis momentos de alegria, concedidos pelo seu bom humor de sempre! Ao meu irmão Deyvison, pelo companheirismo, brincadeiras e convivência agradável. Amo vocês incondicionalmente!

Agradeço a Deus, pela vida.

Enfim, a todos que me apoiaram e contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

“Ah... mas quem sou senão uma formiguinha das
menores, que anda pela terra cumprindo sua obrigação!”

(Chico Xavier)

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS	v
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	3

CAPÍTULO 1: Interação facultativa entre formigas e *Turnera subulata* (Turneraceae): variação espaço-temporal e defesa da planta hospedeira

RESUMO	7
INTRODUÇÃO	8
MATERIAL E MÉTODOS.....	9
Área de estudo	9
Assembleia de formigas associadas	10
Respostas das formigas à simulação de herbivoria/injúria em <i>T. subulata</i>	10
Taxas de herbivoria em <i>T. subulata</i>	11
Análises estatísticas.....	12
RESULTADOS.....	13
Mudança na composição de espécies de formigas associadas	13
Respostas das formigas à simulação da presença de herbívoro/injúria em <i>T. subulata</i>	14
Taxas de herbivoria x papel defensivo das formigas	15
DISCUSSÃO.....	25
REFERÊNCIAS	29

CAPÍTULO 2: Papel das formigas associadas ao longo da fenologia de *Turnera subulata* (Turneraceae): custos ou benefícios para a planta hospedeira?

INTRODUÇÃO	34
MATERIAL E METÓDOS.....	36
Área de estudo e cultivo da planta hospedeira	36
Delineamento experimental.....	36
Avaliação do papel das formigas associadas à <i>T. subulata</i>	37
Análises estatísticas.....	38

RESULTADOS.....	39
<i>Crescimento vegetativo e investimento reprodutivo da planta hospedeira.....</i>	<i>39</i>
<i>Número de herbívoros e danos na planta hospedeira.....</i>	<i>40</i>
<i>Efeito das formigas nos visitantes da planta hospedeira.</i>	<i>40</i>
DISCUSSÃO.....	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
 CONSIDERAÇÕES FINAIS	 59

RESUMO

Interações ecológicas entre organismos são complexas, podendo apresentar resultados dinâmicos, os quais são dependentes do contexto ambiental. Plantas com nectários extraflorais atraem uma ampla variedade de espécies de formigas, em associações comumente consideradas mutualísticas. Nos ambientes tropicais a associação de plantas e formigas desempenha importante papel nas comunidades. *Turnera subulata* é um arbusto ruderal, amplamente distribuído em áreas antropizadas, que apresenta um par de nectários extraflorais na base de cada folha. Neste estudo, avaliamos se as formigas associadas a *T. subulata*: (i) variam espacialmente (entre locais) e temporalmente (ao longo do período do dia); (ii) respondem à simulação da presença de herbívoros e aos sinais de danos ocasionados em diferentes estruturas da planta hospedeira (caule e folha); (iii) reduzem as taxas de herbivoria; (iv) influenciam o crescimento vegetativo e sucesso reprodutivo da planta hospedeira, ao longo da sua fenologia. Os experimentos foram realizados em São Cristóvão-SE. Para o entendimento inicial do sistema estudado, foram selecionados indivíduos de *T. subulata*, nos quais realizamos simulações da presença de herbívoro e realização de injúrias no caule e folhas das plantas hospedeiras. O número total de indivíduos e de espécies de formigas associadas foi quantificado durante três períodos do dia. Foi quantificada a proporção de área foliar perdida e de folhas atacadas por sugador. Também foram realizados experimentos em que foram estabelecidas parcelas com e sem formigas. Em cada parcela foram transplantadas mudas de *T. subulata* que foram acompanhadas ao longo de seus estágios fenológicos. Foram feitas observações a fim de quantificar as medidas de crescimento vegetativo e investimento reprodutivo da planta hospedeira, assim como o número de folhas com danos por insetos sugadores e mastigadores; e o número de herbívoros. O número de visitantes associados a *T. subulata* foi quantificado durante três períodos do dia, durante 5min de observação/parcela. Em todos os casos, os dados foram analisados através de modelos lineares generalizados. Foram encontradas 21 espécies de formigas. A composição da assembleia de formigas apresentou variação significativa no espacialmente e temporalmente. As taxas de visitação e de predação pelas formigas foi maior no caule do que nas folhas das plantas. De forma geral, as taxas de herbivoria não foram correlacionadas com a associação/atividade das formigas, com exceção da proporção de área foliar consumida, que mostrou redução significativa em plantas onde as formigas defenderam as folhas. Os resultados mostraram que no estágio de maturação houve um *trade-off* entre crescimento x reprodução das plantas; sendo este favorável (ex.: maior reprodução) para as plantas que estavam em parcelas com formigas. Plantas sobre tratamento com formigas tiveram menor número de visitantes, incluindo predadores e parasitoides. O número de herbívoros sugadores foi significativamente reduzido na presença de formigas, durante o estágio de floração. Nossos resultados sugerem que os benefícios da associação podem ser dependentes de contexto. Além disso, podem contribuir para a compreensão dos mecanismos envolvidos nas interações facultativas entre formigas e plantas, e para o entendimento das redes de interações em comunidades.

Palavras-chave: defesa indireta, herbivoria, interação formiga-planta, nectário extrafloral, proteção.

ABSTRACT

Ecological interactions between organisms are complex and can present dynamic results, which are dependent on environmental context. Plants with extrafloral nectaries attract a wide variety of ants species, in associations commonly considered mutualistic. In tropical environments the combination of plants and ants play an important role in communities. *Turnera subulata* is a ruderal shrub widely distributed in disturbed areas, which has a pair of extrafloral nectaries in the base of each leaf. In this study, we evaluated whether the ants associated with *T. subulata*: (i) vary spatially (between locals) and temporally (over day period); (ii) respond to simulate presence of herbivores and the signs of damage caused in different structures of the host plant (stem and leaf); (iii) reduce herbivory rates; (iv) influencing the vegetative growth and reproductive success of the host plant, along its phenology. The experiments were conducted in São Cristóvão-SE. For the initial understanding of the system studied, *T. subulata* individuals were selected, in which we performed simulations of the presence of herbivorous and realization of injuries in the stem and leaves of the host plants. The total number of individuals and species associated ants was quantified during three periods of the day. It was quantitated the percentage of leaf area lost and leaves attacked by sucking. They also plot experiments were performed in which were established with and without ants. In each plot were transplanted *T. subulata* seedlings that were followed throughout their phenological stages. Observations were made in order to quantify the vegetative growth and reproductive investment measures the host plant as well as the number of sheets to damage by sucking insects and chewing; and the number of herbivores. The number of visitors associated with *T. subulata* was quantified during three periods of the day, being held 5min observation / share. In all cases, data were analyzed using general linear models. 21 species of ants were found. The composition of the ant meeting showed significant variation between locations and time of day. Visitation rates and predation by ants was higher in stems than in the leaves of plants. In general, herbivory rates were not correlated with the association / activity of ants, with the exception of leaf area proportion consumed, which showed a significant reduction in plants where the ants defended the leaves. The results showed that the maturation stage there was a trade-off between growth x propagation of plants; which is favorable for plants (ex.: higher reproduction) who were in plots with ants. Plants on treatment with ants had fewer visitors, including predators and parasitoids. The number of sucking herbivores was significantly reduced in the presence of ants, during the flowering stage. Our results suggest that the benefits of the association may be dependent on context. Moreover, they can contribute to the understanding of the mechanisms involved in facultative interactions between ants and plants and to the understanding of the communities in interaction nets.

Keywords: indirect defense, herbivory, ant-plant interaction, extrafloral nectaries, protection.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1: Interação facultativa entre formigas e *Turnera subulata* (Turneraceae): variação espaço-temporal e defesa da planta hospedeira

Tabela 1. Espécies/ morfoespécies e respectivas guildas de formigas associadas a *Turnera subulata*, incluindo período de ocorrência ao longo do dia, ocorrência (= número de plantas nas quais foram encontradas; $N = 60$) e número de vezes em que estas mostraram atividade de defesa em diferentes partes da planta hospedeira (para detalhes ver *Material & Métodos*). Classificação das guildas de acordo com Brown Jr (2000). São Cristóvão, Aracaju, Sergipe. Março/2015.....16

Tabela 2. Espécies de formigas com um valor significativo do valor indicador observado (IV), que é uma medida para a ocorrência de espécies em diferentes amostras ao longo do tempo e espaço, de acordo com o teste de Monte Carlo.....18

Tabela 3. Resultado da análise multivariada permutacional (PERMANOVA) da variação na composição de espécies de formigas que responderam aos tratamentos nas estruturas (caule e folha) da planta hospedeira *Turnera subulata*. São Cristóvão, SE, Brasil. 2015.....18

Tabela 4. Sumário dos efeitos da defesa das formigas no caule, folha e total (caule + folha) sobre as taxas de herbivoria, considerando-se a proporção de área foliar consumida e proporção de folhas com dano por inseto sugador em *Turnera subulata*. Modelos Lineares Generalizados. São Cristóvão, Brasil. 2015.....19

Tabela 5. Sumário dos efeitos da abundância de formigas e do número de espécies de formigas associadas a *T. subulata* sobre as taxas de herbivoria, considerando-se a proporção de área foliar consumida e proporção de folhas com dano por inseto sugador em *Turnera subulata*. Modelos Lineares Generalizados. São Cristóvão, Brasil. 2015.....20

CAPÍTULO 2: Papel das formigas associadas ao longo da fenologia de *Turnera subulata* (Turneraceae): custos ou benefícios para a planta hospedeira?

Tabela 1. Espécies/morfoespécies de formigas associadas a *Turnera subulata* (para detalhes ver *Material & Métodos*). Março a junho/2015, São Cristóvão, Sergipe.....42

Tabela 2. Número de morfoespécies de herbívoros mastigadores e sugadores associados a *Turnera subulata* (para detalhes ver *Material & Métodos*). Março a junho/2015, São Cristóvão, Sergipe.....43

Tabela 3. Número de morfoespécies visitantes associadas a *T. subulata* (para detalhes ver *Material & Métodos*). Março a junho/2015, São Cristóvão, Sergipe.....44

Tabela 4. Variação do crescimento vegetativo e investimento reprodutivo de *T. subulata* em função dos estágios fenológicos da planta hospedeira, do tratamento (com e sem formiga) e da interação entre esses fatores. Análises de deviância, modelos mistos.....45

Tabela 5. Variação do número de herbívoros das guildas de mastigadores e sugadores associados à *T. subulata*, em função dos estágios fenológicos da planta hospedeira, do tratamento (com e sem formiga) e da interação entre esses fatores. Análises de deviância, modelos mistos.....46

Tabela 6. Variação do número de visitantes de diferentes guildas em *T. subulata*, em função dos efeitos dos estágios fenológicos da planta hospedeira, do tratamento (com e sem formiga), do período do dia e suas interações. Análises de deviância, modelos mistos.....47

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1: Interação facultativa entre formigas e *Turnera subulata* (Turneraceae): variação espaço-temporal e defesa da planta hospedeira

Fig. 1. Esquema dos bioensaios comportamentais simulando a presença de herbívoros e injúrias em *Turnera subulata*. (A) *Testes com simulação de herbívoro*: r_1 = ramo contendo os tratamentos com fita + cupim; r_2 = ramo com controle contendo apenas a fita adesiva; r_3 = ramo com controle branco (apenas caule ou folha). (B) *Testes com simulação de injúria*: r_4 = ramo com injúria localizada no caule ou na folha; r_5 = ramo sem injúria (controle: apenas caule ou folha). Em todos os casos, a formiga tinha opção de escolher entre o tratamento localizado no caule ou na folha. Cada planta representou uma repetição verdadeira de cada tratamento.....21

Fig. 2. Visitas das formigas ao longo do tempo em plantas de *Turnera subulata*. (A) Proporção de visitas de formigas no caule; e (B) proporção de visitas nas folhas de plantas de *T. subulata* submetidas aos tratamentos: iscas de cupim, e controles (fita dupla-face; estrutura da planta somente). C) Proporção de visitas por formigas em iscas de cupins localizadas no caule e folha de *T. subulata*.....22

Fig. 3. Predação por formigas, ao longo do tempo, em caule e folhas de *Turnera subulata*......23

Fig. 4. Resposta das formigas, ao longo do tempo, em caule e folhas de *Turnera subulata*, submetidas a danos mecânicos......23

Fig. 5. Variação da proporção de área foliar consumida em indivíduos de *T. subulata* em função da resposta das formigas......24

CAPÍTULO 2: Papel das formigas associadas ao longo da fenologia de *Turnera subulata* (Turneraceae): custos ou benefícios para a planta hospedeira?

Fig. 1. (A) Esquema do desenho experimental onde parcelas contendo os tratamentos com e sem formigas foram dispostas de forma inteiramente casualizada. Tratamentos foram dispostos em 3 fileiras contendo 10 parcelas cada, distantes 50cm entre si. (B) Esquema de uma parcela contendo 16 plantas (representados por: ●) equidistantes a 30cm. Destaque para as 4 plantas centrais (quadrado central), as quais consistiram na unidade experimental avaliada. As demais plantas da parcela foram usadas como bordadura.....48

Fig. 2. Efeito da presença ou ausência de formigas associadas sobre o crescimento vegetativo [altura média (cm)] em diferentes estágios fenológicos de plantas de *T. subulata*. São Cristóvão, Sergipe, Brasil. 2015. Estágios fenológicos da planta: veg = vegetativo; flor = floração; frut = frutificação e mat = maturação.49

Fig. 3. Efeito da presença ou ausência de formigas associadas sobre o investimento reprodutivo em diferentes estágios fenológicos de plantas de *T. subulata*: (A) número médio de flores e (B) número médio de frutos/planta. São Cristóvão, Sergipe, Brasil. 2015. Estágios fenológicos da planta: veg = vegetativo; flor = floração; frut. = frutificação e mat = maturação.....49

Fig. 4. Variação do número de herbívoros sugadores em plantas de *T. subulata* ao longo dos diferentes estágios fenológicos. São Cristóvão, Sergipe, Brasil. 2015. Estágios fenológicos da planta: veg = vegetativo; flor = floração; frut. = frutificação e mat = maturação.....50

Fig. 5. Variação do número de visitantes em plantas de *T. subulata* ao longo dos diferentes estágios fenológicos da planta e dos períodos do dia (7-9h, 11-13h e 16-18h), em parcelas com presença ou ausência de formigas. A) Número médio de indivíduos da guilda de nectarívoros/parcela; (B) Número médio de indivíduos da guilda de predadores/parcela; C) Número médio de indivíduos parasitoides/parcela. São Cristóvão, Brasil. 2015. Estágios fenológicos da planta: veg = vegetativo; flor = floração; frut = frutificação e mat = maturação.....51

INTRODUÇÃO GERAL

Interações ecológicas entre pares de organismos são complexas e seus resultados nem sempre são fixos no tempo e no espaço (Pires & Del-Claro, 2014). Assim, a natureza dessas interações pode ser modificada de acordo com o balanço entre custos/benefícios para as espécies envolvidas (Stadler & Dixon, 2005). Variações nos resultados de interações tradicionalmente consideradas positivas ou antagônicas têm sido observadas para muitos pares de organismos [p. ex.: o caranguejo *Pagurus longicarpus* e o hidróide *Hydractinia* sp. (Buckley & Ebersole, 1994); a bactéria *Helicobacter pylori* e seu hospedeiro (Blaser & Atherton, 2004); o fungo *Colletotrichum magna* e plantas (Redman et al., 2001)]. Relações mutualísticas, por exemplo, abrangem um espectro dinâmico de resultados, determinados pela variação espaço-temporal de fatores bióticos e/ou abióticos (Bronstein, 1998; 1994). Dentre tais interações, as relações plantas-formigas estão entre as mais estudadas. Embora muitas pesquisas relatem variações nas dinâmicas das relações plantas-formigas (Díaz-Castelazo et al., 2013; Kersch & Fonseca, 2005; Rico-Gray & Oliveira, 2010; Rudgers & Strauss, 2004), poucas têm investigado os custos e os benefícios para as partes envolvidas nessas interações (Kersch & Fonseca, 2005; Rico-Gray et al., 1998; Rios et al., 2008).

Interações plantas-formigas são caracterizadas pelo investimento da planta na produção de estruturas que representam abrigo (p. ex.: domáceas) e/ou alimento (p. ex.: nectários extraflorais) que são utilizados por formigas. As formigas, por sua vez, em troca destes benefícios, podem proteger a planta contra herbivoria (Fernández & Palacio, 2003). Nectários extraflorais (NEFs) são glândulas produtoras de néctar - substância rica principalmente em açúcares - que não estão relacionados diretamente com a polinização (González-Teuber & Heil, 2009; Wäckers et al., 2001). Tal secreção açucarada atrai uma grande diversidade de inimigos naturais, como: vespas (Cuautle & Rico-Gray, 2003; Wäckers, 2005), parasitoides (Koptur, 2005; Marazzi et al., 2013), aranhas (Nahas et al., 2012; Whitney, 2004) e, principalmente formigas (Rico-Gray & Oliveira, 2010). Determinadas plantas também possuem sementes cobertas por elaiossomo – apêndices ricos em

lipídeos – que são atrativos para formigas que ao transportá-los para o consumo, contribuem para dispersão e sucesso reprodutivo das plantas (Cuaute & Rico-Gray, 2003; Cuaute et al., 2005).

Embora comumente consideradas como mutualísticas, as interações envolvendo plantas e formigas, envolvem custos ecológicos e fisiológicos para ambas as partes. Assim, o balanço final destas interações pode variar ao longo de um *continuum*, que inclui desde benefícios mútuos até progressivas interações antagônicas (Bronstein, 1994). Variações no resultado dessas interações têm sido consideradas mais comuns em mutualismos facultativos do que nos obrigatórios. Isto pode ser explicado pelas diferenças de custos e benefícios inerentes à associação entre espécies alternativas e pela possível existência de uma série de condições, nas quais os parceiros são desnecessários ou absolutamente prejudiciais (Bronstein, 1994; Pereira & Trigo, 2013). Vários fatores bióticos e abióticos têm sido relatados como importantes moduladores no balanço das interações plantas-formigas, como: a quantidade de recurso oferecido (Rudgers & Strauss, 2004), a fenologia da planta hospedeira (Vilela et al., 2014), o efeito da variação geográfica na assembleia de formigas associadas e suas capacidades defensivas (Leal et al., 2014; Pringle & Gordon, 2013), as mudanças ambientais ao longo do tempo (p. ex: incêndios) (Pires & Del-Claro, 2014), a disponibilidade de luz e nutrientes (Kersch & Fonseca, 2005), a presença de inimigos naturais (Pereira & Trigo, 2013) e a atratividade dos elaiossomos (p. ex: tamanho e composição) (Leal et al., 2014).

Estudos sugerem que interações plantas-formigas, mesmo quando facultativas e/ou oportunistas, podem ser determinantes para a estruturação de redes tróficas em ambientes tropicais (Beattie, 1985; Rico-Gray & Oliveira, 2010). Tal importância deve-se ao fato das formigas representarem um dos grupos de macroartrópodos mais abundantes e diversos nos ambientes tropicais (Wilson, 1971), e consistirem nos mais frequentes visitantes de NEFs de plantas (Oliveira & Brandão, 1991). Dessa forma, estudos evidenciando os mecanismos envolvidos nestas interações são fundamentais para compreensão das relações multitróficas em comunidades naturais.

O gênero *Turnera* L. (Turneraceae) possui espécies arbustivas, que possuem nectários extraflorais, e ocorrem em grande parte da América Latina (Hosamani, 1993; Morais et al., 1994;

Piacente et al., 2002). A espécie *Turnera subulata* é heliófila ubíqua, possui flores heterostílicas, floresce e frutifica durante todo o ano. *T. subulata* é encontrada em todo o nordeste brasileiro (Arbo, 2005), ocorrendo principalmente em áreas antropizadas. No entanto, nenhum trabalho, até o momento, analisou os custos e benefícios envolvidos na associação entre formigas e *T. subulata*.

O objetivo desta dissertação foi analisar o papel das formigas associadas à *T. subulata* e seus efeitos sobre a hospedeira. A dissertação foi dividida em dois capítulos. O capítulo 1 consiste no artigo “Interação facultativa entre formigas e *Turnera subulata* (Turneraceae): variação espaço-temporal e defesa da planta hospedeira”, que: (i) revela a assembleia de formigas associadas à planta e sua variação espaço-temporal, e também (ii) analisa o possível papel defensivo das formigas. Já o capítulo 2 - “Papel das formigas associadas ao longo da fenologia de *Turnera subulata* (Turneraceae): custos ou benefícios para a planta hospedeira?” - apresenta os resultados de um experimento manipulativo onde controlamos a presença de formigas (ao longo dos estágios fenológicos da planta) e avaliamos seus efeitos no crescimento vegetativo, reprodutivo, taxas de herbivoria e número de visitantes florais associados à planta. De forma geral, mostramos que o balanço final da interação entre formigas e *T. subulata* pode ser dependente do contexto ecológico, incluindo os estágios fenológicos da planta e a presença de outros organismos associados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arbo, M.M., 2005. Estudios sistemáticos en *Turnera* (Turneraceae). III. Series Anomalaе y *Turnera*. Bonplandia 14, 115–318.
- Beattie, A.J., 1985. The evolutionary ecology of ant-plant mutualisms, 1^a ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Blaser, M.J., Atherton, J.C., 2004. *Helicobacter pylori* persistence biology and disease. J. Clin. Invest. 113, 321–333.
- Bronstein, J.L., 1998. The contribution of ant-plant protection studies to our understanding of mutualism 1. Biotropica 30, 150–161.

- Bronstein, J.L., 1994. Conditional outcomes in mutualistic interactions. *Trends Ecol. Evol.* 9, 214–217.
- Buckley, W.J., Ebersole, J.P., 1994. Symbiotic organisms increase the vulnerability of a hermit crab to predation. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 182, 49–64.
- Cuaute, M., Rico-Gray, V., 2003. The effect of wasps and ants on the reproductive success of the extrafloral nectaried plant *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). *Funct. Ecol.* 17, 417–423.
- Cuaute, M., Rico-Gray, V., Diaz-Castelazo, C., 2005. Effects of ant behaviour and presence of extrafloral nectaries on seed dispersal of the Neotropical myrmecochore *Turnera ulmifolia* L. (Turneraceae). *Biol. J. Linn. Soc.* 86, 67–77.
- Díaz-Castelazo, C., Sánchez-Galván, I.R., Guimarães, P.R., Raimundo, R.L.G., Rico-Gray, V., 2013. Long-term temporal variation in the organization of an ant-plant network. *Ann. Bot.* 111, 1285–1293.
- Fernández, F., Palacio, E., 2003. Sistemática y filogenia de las hormigas: breve repaso a propuestas., In: Fernández, F. (Ed.), *Introducción a las hormigas de la región neotropical.* 29–44.
- González-Teuber, M., Heil, M., 2009. Nectar chemistry is tailored for both attraction of mutualists and protection from exploiters. *Plant Signal. Behav.* 4, 809–813.
- Hosamani, K.M., 1993. Fatty acids in seed oil from *Turnera ulmifolia*. *Phytochemistry* 34, 1363–1365.
- Kersch, M.F., Fonseca, C.R., 2005. Abiotic factors and the conditional outcome of an ant-plant mutualism. *Ecology* 86, 2117–2126.
- Koptur, S., 2005. Nectar as fuel for plant protectors. In: Wäckers, F.L., Rijn, P.C.J (Eds). *Plant-provided food for carnivorous insects: a protective mutualism and its applications.* Cambridge University Press, New York, 75-108.
- Leal, L.C., Neto, M.C.L., de Oliveira, A.F.M., Andersen, A.N., Leal, I.R., 2014. Myrmecochores can target high-quality disperser ants: variation in elaiosome traits and ant preferences for myrmecochorous Euphorbiaceae in Brazilian Caatinga. *Oecologia* 174, 493–500.
- Marazzi, B., Bronstein, J.L., Koptur, S., 2013. The diversity: ecology and evolution of extrafloral nectaries in woody plant species of the Brazilian Cerrado. *Plant Biology* 111, 1243-1250.
- Morais, S.M., Alencar, J.W., Machado, M.I.L., Craveiro, A.A., Matos, F.J.A., Filho, R.B., 1994. Essential oils from leaves of *Turnera calyptrocarpa* urban and *Turnera caerulea* DC. *J. Essent. Oil Res.* 6, 429–431.

- Nahas, L., Gonzaga, M.O., Del-Claro, K., 2012. Emergent impacts of ant and spider interactions: herbivory reduction in a tropical savanna tree. *Biotropica* 44, 498–505.
- Oliveira, P.S., Brandão, C.R.F., 1991. The ant community associated with extrafloral nectaries in the Brazilian cerrados, in: Cutle, D., Huxley, C.R. (Eds.), *Ant-Plant Interactions*. Oxford University Press, Oxford, p. 601.
- Pereira, M.F., Trigo, J.R., 2013. Ants have a negative rather than a positive effect on extrafloral nectaried *Crotalaria pallida* performance. *Acta Oecologica* 51, 49–53.
- Piacente, S., Camargo, E.E.S., Zampelli, A., Gracioso, J.S., Souza Brito, A.R., Pizza, C., Vilegas, W., 2002. Flavonoids and arbutin from *Turnera diffusa*. *Zeitschrift fur Naturforsch. - Sect. C J. Biosci.* 57, 983–985.
- Pires, L.P., Del-Claro, K., 2014. Variation in the outcomes of an ant-plant system: fire and leaf fungus infection reduce benefits to plants with extrafloral nectaries. *J. Insect Sci.* 14, 84.
- Pringle, E.G., Gordon, D.M., 2013. Protection mutualisms and the community: geographic variation in an ant-plant symbiosis and the consequences for herbivores. *Sociobiology* 60, 242–251.
- Redman, R.S., Dunigan, D.D., Rodriguez, R.J., 2001. Fungal symbiosis from mutualism to parasitism: Who controls the outcome, host or invader? *New Phytol.* 151, 705–716.
- Rico-Gray, V., García-Franco, J., Palacios-Rios, M., Díaz-Castelazo, C., Parra-Tabia, V., Navarro, J., 1998. Geographical and seasonal variation in the richness of ant-plant interactions in México. *Biotropica* 30, 190–200.
- Rico-Gray, V., Oliveira, P.S., 2010. The ecology and evolution of ant-plant interactions. *Austral Ecol.* 35, 116–119.
- Rios, R.S., Marquis, R.J., Flunker, J.C., 2008. Population variation in plant traits associated with ant attraction and herbivory in *Chamaecrista fasciculata* (Fabaceae). *Oecologia* 156, 577–588.
- Rudgers, J. a, Strauss, S.Y., 2004. A selection mosaic in the facultative mutualism between ants and wild cotton. *Proc. Biol. Sci.* 271, 2481–2488.
- Stadler, B., Dixon, A.F.G., 2005. Ecology and evolution of aphid-ant interactions. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 36, 345–372.
- Vilela, A.A., Torezan-Silingardi, H.M., Del-Claro, K., 2014. Conditional outcomes in ant-plant-herbivore

interactions influenced by sequential flowering. *Flora - Morphol. Distrib. Funct. Ecol. Plants* 209, 359–366.

Wäckers, F., 2005. *Plant-Provided Food for Carnivorous Insects: A Protective mutualism and its applications*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Wäckers, F., Zuber, D., Wunderlin, R., Keller, F., 2001. The effect of herbivory on temporal and spatial dynamics of foliar nectar production in cotton and castor. *Ann. Bot.* 87, 365–370.

Whitney, K.D., 2004. Experimental evidence that both parties benefit in a facultative plant-spider mutualism. *Ecology* 85, 1642–1650.

Wilson, E.O., 1971. *The insects societies*. Belknap Press, Cambridge, MA.

CAPÍTULO 1

Interação facultativa entre formigas e *Turnera subulata* (Turneraceae): variação espaço-temporal e defesa da planta hospedeira

Nayara G. Cruz, Paulo F. Cristaldo, Leandro Bacci, Camilla S. Almeida; Efrem J. M. Ribeiro; Alisson S. Santana; Alexandre P. Oliveira; Abraão A. Santos; Marcos L. Rocha & Ana P. A. Araújo

RESUMO. Plantas com nectários extraflorais atraem uma variedade de espécies de formigas, em associações comumente consideradas mutualísticas. No entanto, os resultados de tais interações podem ser dependentes do contexto ecológico. *Turnera subulata* é um arbusto ruderal, amplamente distribuído em áreas antropizadas, que apresenta um par de nectários extraflorais na base de cada folha. Aqui avaliamos se as formigas associadas a *T. subulata*: (i) variam espacialmente (entre locais) e temporalmente (ao longo do período do dia); (ii) respondem à simulação da presença de herbívoros e aos sinais de danos ocasionados em diferentes estruturas da planta hospedeira (caule e folha); e (iii) reduzem as taxas de herbivoria, em função de seu papel defensivo. Indivíduos de *T. subulata* ($N = 60$) foram selecionados para avaliar a capacidade defensiva das formigas frente às simulações da presença de herbívoro e realização de injúrias no caule e folhas das plantas hospedeiras. Nestas plantas foram quantificados o número total de indivíduos e de espécies de formigas associadas ao longo do dia. Em 50 plantas, foi quantificada a proporção de área foliar perdida e de folhas atacadas por mastigadores. No total, foram encontradas 21 espécies de formigas associadas. A composição da assembleia de formigas apresentou variação significativa entre os locais e período do dia. As taxas de visitação e de predação pelas formigas foi maior no caule do que nas folhas das plantas. De forma geral, as taxas de herbivoria não foram correlacionadas com a associação/atividade das formigas; com exceção da proporção de área foliar consumida, que mostrou redução significativa em plantas onde as formigas defenderam as folhas. Nossos resultados sugerem que os benefícios da associação podem ser dependentes do contexto ecológico, incluindo a variação na composição de espécies no tempo/espaço; o que pode mascarar a correlação positiva entre a defesa das formigas e as taxas de herbivoria.

Palavras-chave: nectários extraflorais, herbivoria, proteção, defesa indireta.

INTRODUÇÃO

Plantas expressam uma ampla variedade de mecanismos de defesa diretos e indiretos, reconhecidos por minimizar a herbivoria (Strauss & Zangerl, 2002). Os mecanismos indiretos são representados pela defesa realizada por inimigos naturais (ex. predadores e parasitoides) que são atraídos por recursos oferecidos pela hospedeira (Moreira & Del-Claro, 2005; Byk & Del-Claro, 2011; Heil, 2011); ou pela emissão de compostos voláteis orgânicos (VOCs) (Dicke et al., 1990), normalmente ativados e liberados após a herbivoria.

Algumas espécies de plantas produzem estruturas, como por exemplo nectários extraflorais (NEFs), que atraem espécies de formigas que atuam na defesa da planta (Oliveira et al., 1999; Moreira & Del-Claro, 2005). As formigas estão entre os macroartrópodos mais abundantes e diversos nos ambientes terrestres tropicais (Wilson, 1971), e consistem nos mais frequentes visitantes de NEFs de plantas (Oliveira & Brandão, 1991). Tais organismos podem beneficiar a planta hospedeira de forma direta (por meio da predação efetiva) ou indiretamente (pela simples presença/patrolhamento, que pode inibir ou afugentar possíveis herbívoros).

A associação entre planta e formigas é comumente considerada mutualística: a planta fornece alimento à formiga que geralmente atua de maneira eficiente na defesa da planta. No entanto, os resultados destas interações podem ser contexto-dependente, sendo mais variáveis quando há baixa especificidade entre as espécies envolvidas (Heil, 2008; Bronstein, 2009). Os recursos oferecidos pelas plantas também podem atrair indivíduos que não compensam o investimento energético das plantas hospedeiras, resultando em baixa contribuição para o aumento do *fitness* das mesmas (Nogueira et al., 2012). Além da baixa eficiência defensiva, em alguns casos, as formigas podem ainda prejudicar outras relações positivas envolvendo a planta hospedeira (ex. visitas de polinizadores, predadores e parasitoides) (Ness, 2006; Assunção et al., 2014). Alguns estudos têm sugerido que a eficácia de defesa depende da identidade (Stanton & Palmer, 2011) e da quantidade de formigas associadas às plantas hospedeiras (Rico-Gray & Oliveira, 2007); fatores que podem

variar no espaço e no tempo. Em arbustos de *Turnera ulmifolia*, por exemplo, estudos relataram um total de 25 espécies de formigas associadas (Cuautle et al., 2005) e constataram que suas relações com a planta hospedeira nem sempre são mutualísticas (Torres-Hernández et al., 2000; Cuautle & Rico-Gray, 2003; Cuautle et al., 2005; Salazar-Rojas et al., 2012).

O gênero *Turnera* L. (Turneraceae) possui espécies arbustivas que ocorrem em grande parte da América Latina (Piacente et al., 2002). *Turnera subulata* é uma planta ruderal, amplamente distribuída e abundante em diferentes biomas brasileiros (Arbo, 2005), ocorrendo em ambientes naturais e, principalmente, em áreas antropizadas. Nesta espécie, o pecíolo de cada folha apresenta um par de nectários extraflorais, onde normalmente encontram-se formigas associadas (Arbo, 2013). No entanto, o papel das formigas envolvidas em tal interação ainda não foi estudado.

Neste estudo, avaliamos se as assembleias de formigas encontrada em *T. subulata*: (i) variam espacialmente (entre locais) e temporalmente (ao longo do período do dia); (ii) respondem à simulação da presença de herbívoros e aos sinais de danos ocasionados em diferentes estruturas da planta hospedeira (caule e folha); e (iii) se reduzem as taxas de herbivoria (por sugadores e mastigadores) nas mesmas, em função de seu papel defensivo.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O estudo foi realizado no *campus* da Universidade Federal de Sergipe (UFS) (10°55'35"S, 37°6'14"O), localizado no município de São Cristóvão, Sergipe, Brasil. O clima na região é classificado como tropical úmido e seco (Aw), de acordo com o sistema de classificação Köppen, com temperatura média de 25,3°C e pluviosidade média anual de 1372 mm. Os experimentos foram conduzidos durante estação seca (março a abril/ 2015).

Assembleia de formigas associadas

A amostragem da fauna de formigas foi conduzida em 60 plantas (contendo no mínimo cinco ramificações principais), que foram aleatoriamente selecionadas em seis espaços distintos, com uma distância mínima de 80 m entre si. Para avaliar se há variação na composição de formigas associadas ao longo do tempo e espacialmente, as coletas de formigas foram realizadas nessas plantas através da técnica de batida de bandeja ao longo de três períodos do dia: 10-12h; 13-15h e de 16-18h. Espécimens foram coletados com o auxílio de pinças e acondicionados em frascos com álcool 80%. As amostras foram levadas para o laboratório de Interações Ecológicas da UFS, montadas em alfinete entomológico e identificadas, seguindo literatura específica (Bolton, 1994; Bolton, 2003; Baroni-Urbano & Andrade, 2007) e por comparação com a Coleção Entomológica Padre Jesus Moure, da Universidade Federal do Paraná, Brasil. Posteriormente as formigas foram classificadas em guildas alimentares de acordo com Brown Jr (2000).

Respostas das formigas à simulação de herbivoria/injúria em T. subulata

Experimentos foram conduzidos com o intuito de verificar a capacidade das formigas associadas de realizarem a defesa indireta nas plantas, via (i) mecanismos de reconhecimento/agressividade contra possíveis herbívoros associados às plantas e (ii) de percepção/resposta aos odores emitidos pela planta sob injúria. Assim, dois experimentos distintos foram realizados simulando: (i) a presença de herbívoro e (ii) a realização de injúria na planta hospedeira. Em ambos os experimentos, cada tratamento foi estabelecido em um ramo diferente da planta, arbitrariamente selecionado, onde as formigas tinham a opção de escolha entre o mesmo sinal emitido no caule ou na folha (Fig. 1). Os tratamentos sempre foram estabelecidos a 15 cm da parte apical das ramificações. Em todos os casos, os experimentos comportamentais foram realizados entre 7 e 10h, sendo conduzidos na ausência de chuvas.

A simulação da presença de herbívoro nas plantas foi realizada utilizando operário do cupim *Nasutitermes macrocephalus*, como proposto por Oliveira et al. (1987). Em cada planta, um

operário de cupim foi aderido à folha ou ao caule das plantas através de fita dupla face (1cm de comprimento). Foram selecionados aleatoriamente três ramos de cada planta. Em cada ramo selecionado, uma folha e um caule sempre foram submetidos ao mesmo tratamento (Fig. 1). Foram estabelecidos os seguintes tratamentos: (i) simulação da presença de herbívoro (cupim + fita dupla face); e tratamentos controle: (ii) apenas fita dupla face (1cm); ou (iii) apenas o caule ou a folha (Fig. 1). A observação de todos os tratamentos foi feita simultaneamente por dois avaliadores.

Os experimentos para avaliar possíveis respostas das formigas aos sinais emitidos pelas plantas, foram realizados 30 min após o teste de predação. As fitas e os cupins utilizados anteriormente foram removidos cuidadosamente sem causar danos e perturbações às plantas. Posteriormente, foram realizadas injúrias mecânicas no caule e na folha através de um corte de 1cm de comprimento, com o uso de estilete. Em cada planta foram selecionados aleatoriamente dois ramos, diferentes dos utilizados no teste de predação, sendo estabelecido um tratamento na folha e caule de cada ramo. Os tratamentos consistiram na injúria mecânica e o controle consistiu em avaliar caule e folha sem dano (Fig. 1). Em cada ramo, folha e caule sempre foram submetidos ao mesmo tratamento. A avaliação foi feita por um observador.

Para ambos os bioensaios foram feitas observações diretas durante 10 minutos, onde foi quantificado, para cada tratamento, o tempo gasto para a chegada da primeira formiga no local da injúria ou para a realização de predação pelas formigas nas iscas.

Taxas de herbivoria em T. subulata

Após a quantificação da fauna associada e realização dos bioensaios, foram amostradas aleatoriamente 50 plantas (dentre as 60 analisadas) para quantificar as taxas de herbivoria. Estas plantas tiveram toda sua parte aérea retirada e foram mantidas em freezer para quantificação do número total de folhas e do número de folhas com injúrias (puncturas) causados por inseto sugador. Posteriormente, todas as folhas foram removidas das plantas e fotografadas a fim de se estimar a

área foliar total e a área perdida por inseto mastigador. As imagens foram processadas no software Image J (Wayne Rasband National Institute of Health, USA).

Análises estatísticas

Todas as análises foram realizadas no software R (R Development Core Team 2015) utilizando modelos lineares generalizados (GLM), seguido por análises de resíduos a fim de verificar a adequabilidade das distribuições e dos modelos testados.

O efeito da variação no espacial e temporal, e da interação entre esses fatores sobre a composição de formigas associadas às plantas de *T. subulata*, foi testado através de análise multivariada permutacional de variância (PERMANOVA), com o pacote *vegan*. A identidade de cada planta foi incluída no modelo como bloco. Modelo semelhante foi feito para avaliar se há diferença na composição de espécies de formigas que realizaram predação no caule e folha das plantas.

O tempo gasto para a visita e predação por formigas, nos diferentes tratamentos dos experimentos, foram analisados através de análises de sobrevivência, com distribuição de Weibull, utilizando o pacote *survival*. O censor referente à morte dos indivíduos na análise de sobrevivência correspondeu ao momento em que as formigas chegaram em cada tratamento ou que realizaram a predação. Em todos os casos cada planta foi considerada uma repetição verdadeira. Assim, a análise forneceu, para cada tratamento, o tempo médio gasto para que 50% das plantas analisadas fossem visitadas ou tivessem suas iscas predadas por formigas. Para avaliar a proporção de iscas predadas ao longo do tempo foram considerados apenas o tratamento com a simulação da presença de herbívoro ('cupim + fita'), nos testes realizados no caule e folha.

A fim de verificar se as taxas de herbivoria são correlacionadas com a efetividade de defesa das formigas no caule, na folha, e com a defesa total (caule + folha), foram feitos modelos independentes, onde as variáveis *y* foram: a proporção de área foliar consumida por herbívoros mastigadores (área foliar consumida/área foliar total); e a proporção do número de folhas com

danos por inseto sugador (número de folhas com dano/ número folhas total). As variáveis x foram consideradas: a ocorrência ou não de predação no caule, na folha e predação total (caule + folha) (ANODEV); e o número total indivíduos e de espécies de formigas associadas (análises de regressão linear simples). As distribuições de erros foram utilizadas de acordo com a natureza das variáveis y , e os modelos foram corrigidos para sobredispersão quando necessário.

RESULTADOS

Mudança na composição de espécies de formigas associadas

Foram coletadas 21 espécies de formigas associadas a *T. subulata*, pertencentes a 11 gêneros e quatro subfamílias (Tabela 1). As espécies/morfoespécies mais frequentes, considerando-se todos os períodos do dia e todos os locais amostrados, foram *Solenopsis invicta* (ocorrência em 96,5% das plantas), *Dorymyrmex* sp.1(93%) e *Brachymyrmex* sp.1 (70%) (Tabela 1). As espécies *Dorymyrmex* sp.1, *Brachymyrmex* sp.1 e *Camponotus melanoticus* foram presentes em todos os seis locais amostrados, seguido por *C. blandus*, *C. melanoticus*, *Crematogaster obscurata* e *Solenopsis invicta*, que ocorreram em cinco locais. Todas as espécies mais frequentes, considerando-se a ocorrência entre plantas, período do dia e local, pertencem à guilda de generalistas (Tabela 1).

A composição da assembleia de formigas diferiu de forma significativa no espaço e tempo (PERMANOVA, $P < 0,001$), assim como com a interação entre esses fatores (PERMANOVA, $P = 0,005$). Com base no teste Monte Carlo, as espécies *C. atriceps* e *C. melanoticus* foram as responsáveis pela mudança na composição de formigas por período (Tabela 2). Já as espécies: *C. leydigi*, *Cephalotes clypeatus*, *C. pusillus*, *Crematogaster obscurata*, *Paratrechina longicornis*, *Pseudomyrmex schuppi*, *S. invicta* e *Wasmannia auropunctata* foram as responsáveis pela mudança na composição de formigas por local (Tabela 2).

Respostas das formigas à simulação da presença de herbívoro/injúria em T. subulata

Em todas as plantas avaliadas, as formigas sempre realizaram visitas no caule e nas folhas. A proporção de visitas por formigas aumentou ao longo do tempo de observação ($\chi^2 = 209,86$, $d.f. = 118$, $P < 0,0001$; Fig. 2A-B). Nos testes de simulação da presença de herbívoro realizados no caule, a porcentagem de visitas por formigas diferiu significativamente entre os tratamentos, sendo maior no tratamento contendo o cupim, seguido pelos controles (somente 'fita' e 'caule') ($\chi^2 = 22,32$, $d.f. = 118$, $P < 0,0001$; Fig. 2A). Quando a simulação de herbívoros foi realizada nas folhas, o tratamento com cupim apresentou maior proporção de visitas ($\chi^2 = 7,92$, $d.f. = 118$, $P < 0,019$), no entanto não houve diferenças significativas entre os tratamentos controle ('fita' e 'folha') ($\chi^2 = 0,58$, $d.f. = 18$, $P < 0,580$; Fig. 2B). De um modo geral, as visitas em iscas presentes no caule ocorreram em maior número e mais rapidamente do que aquelas em iscas localizadas nas folhas das plantas hospedeiras ($\chi^2 = 44,93$, $d.f. = 118$, $P < 0,0001$; Fig. 2C).

Foi quantificado um total de 59 iscas predadas, sendo 74,6% das predações realizadas em iscas no caule e 25,4% nas folhas. A maior taxa de predação foi observada para a guilda de formigas 'generalistas' (94,8%). Além de sua alta frequência, *S. invicta* também foi a espécie que mais defendeu a planta, realizando predação das iscas em 35,6% das plantas estudadas (Tabela 1) e em 70% das plantas nas quais estava associada. Dentre as demais formigas mais frequentes, *Dorymyrmex* sp.1 realizou predação das iscas em 13,5% das plantas totais e 50% das plantas nas quais estava associada; enquanto *Brachymyrmex* sp. não realizou nenhuma predação. A proporção de iscas predadas considerando-se toda a população de plantas amostradas, aumentou ao longo do tempo de observação. Houve significativamente maior proporção de iscas predadas por formigas no caule do que na folha ($\chi^2 = 34,26$, $d.f. = 118$, $P < 0,0001$; Fig. 3). A composição de espécies que realizou predação também diferiu de forma significativa entre o caule e a folha das plantas hospedeiras (PERMANOVA, $P < 0,0001$; Tabela 3).

As formigas também responderam aos sinais emitidos pelo caule da planta após a realização de injúria mecânica (Fig. 4). A proporção de visitas por formigas em plantas danificadas aumentou ao longo do tempo, sendo maior nos caules do que nas folhas ($\chi^2 = 1974,59$, $d.f. = 118$, $P = 0,001$). Os caules danificados apresentaram mais visitas do que caules sem injúrias ($P = 0,001$). No entanto, folhas com ou sem injúrias mecânicas não diferiram significativamente em relação à visitação por formigas ($\chi^2 = 2,96$, $d.f. = 118$, $P = 0,084$; Fig. 4).

Taxas de herbivoria x papel defensivo das formigas

A porcentagem média de perda de área foliar observada nas plantas analisadas foi de 2,5; enquanto a porcentagem de folhas com danos por inseto sugador foi em média 10%. Em nenhuma planta de *T. subulata* foi observado sinal de herbivoria no caule.

De forma geral, as taxas de herbivoria considerando-se a proporção de área foliar consumida e a proporção de folhas com danos por sugador não foram correlacionadas com a defesa das formigas no caule, na folha ou em ambos os locais (Tabela 4). A única exceção foi a proporção de área foliar consumida, que mostrou redução significativa nas plantas onde as formigas realizaram defesa nas folhas (Tabela 4, Fig. 5).

De forma similar, a proporção de área foliar consumida e de folhas com danos por sugador também não mostraram correlação significativa com o número de indivíduos e nem com a riqueza de espécies de formigas associadas (Tabela 5).

Tabela 1. Espécies/morfoespécies e respectivas guildas de formigas associadas a *Turnera subulata*, incluindo período de ocorrência ao longo do dia, ocorrência (= número de plantas nas quais foram encontradas; $N = 60$) e número de vezes em que estas mostraram atividade de defesa em diferentes partes da planta hospedeira (para detalhes ver *Material & Métodos*). Classificação das guildas de acordo com Brown Jr (2000). São Cristóvão, Aracaju, Sergipe. Março/2015.

Espécie/morfoespécie	Guilda	Ocorrência			Total	N defesa das formigas		
		10-12h	13-15h	16-18h		Folha	Caule	Total
Dolichoderinae								
<i>Dorymyrmex</i>	Generalista	15	16	25	56	2	6	8
<i>Dorymyrmex</i> sp.1								
Ectatomminae								
<i>Ectatomma</i>	Predadora e nectarífera	3	2	2	7	0	2	2
<i>Ectatomma brunneum</i>								
Formicinae								
<i>Brachymyrmex</i>	Generalista	11	16	15	42	0	0	0
<i>Brachymyrmex</i> sp.1								
<i>Camponotus</i>	Generalista	3	13	1	17	1	1	2
<i>C. atriceps</i>								
<i>C. blandus</i>								
<i>C. crassus</i>								
<i>C. leydigi</i>								
<i>C. melanoticus</i>								
<i>C. sp.1</i>								
<i>Paratrechina</i>								
<i>P. longicornis</i>	Generalista	2	4	5	11	0	1	1

Tabela 1.continuação

Espécie/morfoespécie		Guilda	Ocorrência			Total	N defesa das formigas		
			10-12h	13-15h	16-18h		Folha	Caule	Total
Myrmicinae									
<i>Cardiocondyla</i>									
<i>Cardiocondyla emeryi</i>		Predadora	5	1	5	11	0	1	1
<i>Cephalotes</i>									
<i>Cephalotes clypeatus</i>		Consumidoras de pólen	1	0	1	2	0	0	0
<i>Cephalotes pellans</i>		Consumidoras de pólen	0	1	0	1	0	0	0
<i>Cephalotes pusillus</i>		Consumidoras de pólen	5	1	3	9	0	1	1
<i>Crematogaster</i>									
<i>Crematogaster evallans</i>		Generalista	1	1	1	3	0	0	0
<i>Crematogaster obscurata</i>		Generalista	7	8	6	21	1	5	6
<i>Solenopsis</i>									
<i>S. invicta</i>		Generalista	18	23	17	58	7	14	21
<i>Pseudomyrmex</i>									
<i>Pseudomyrmex schuppi</i>		Predadora e nectarífera	2	0	0	2	0	0	0
<i>Pseudomyrmex simplex</i>		Predadora e nectarífera	3	0	1	4	0	0	0
<i>Pseudomyrmex termitarius</i>		Predadora e nectarífera	0	0	1	1	0	0	0
<i>Wasmannia</i>									
<i>W. auropunctata</i>		Generalista	2	2	2	6	2	2	4
Total	21						15	45	60

Tabela 2. Espécies de formigas com um valor significativo do valor indicador observado (IV), que é uma medida para a ocorrência de espécies em diferentes amostras ao longo do tempo e espaço, de acordo com o teste de Monte Carlo.

Espécies	Valor Indicador (IV)	P-value
Período		
<i>Camponotus atriceps</i>	0,1657	0,002
<i>Camponotus melanoticus</i>	0,1185	0,005
Espaço		
<i>Camponotus leydigii</i>	0,2029	0,002
<i>Cephalotes clypeatus</i>	0,1111	0,014
<i>Cephalotes pusillus</i>	0,1355	0,022
<i>Crematogaster obscurata</i>	0,1440	0,026
<i>Paratrechina longicornis</i>	0,1855	0,006
<i>Pseudomyrme xschuppi</i>	0,1111	0,025
<i>Solenopsis invicta</i>	0,2093	0,008
<i>Wasmannia auropunctata</i>	0,1538	0,010

Tabela 3. Resultado da análise multivariada permutacional (PERMANOVA) da variação na composição de espécies de formigas que responderam aos tratamentos nas estruturas (caule e folha) da planta hospedeira *Turnera subulata*. São Cristóvão, SE, Brasil. 2015.

Fonte	g.l.	SS	MS	Permdisp	F-value	R ²	P-value
Local teste	1	2,467	2,46667	3,3227		0,02739	< 0,0001
<i>Residuals</i>	118	87,600	0,74237			0,97261	
<i>Total</i>	119	90,067				1,00000	

Tabela 4. Sumário dos efeitos da defesa das formigas no caule, folha e total (caule + folha) sobre as taxas de herbivoria, considerando-se a proporção de áreas foliar consumida e proporção de folhas com dano por insetos sugadores em *Turnera subulata*. Modelos Lineares Generalizados. São Cristóvão, Brasil. 2015.

Termo	g.l.	Deviância	P (>Chi)
<i>Proporção de área foliar consumida</i>			
Predação no caule	1	1,372	0,241
Error	48	50,641	
Predação na folha	1	5,319	0,021
Error	48	49,701	
Predação total (folha + caule)	1	1,327	0,318
Error	48	50,641	
<i>Proporção folhas dano por sugador</i>			
Predação no caule	1	0,4354	0,186
Error	48	10,936	
Predação na folha	1	0,4354	0,186
Error	48	10,936	
Predação total (folha + caule)	1	0,059	0,183
Error	48	1,586	

Tabela 5. Sumário dos efeitos da abundância de formigas e do número de espécies de formigas associadas a *T. subulata* sobre as taxas de herbivoria, considerando-se a proporção de área foliar consumida e proporção de folhas com dano por insetos sugadores em *Turnera subulata*. Modelos Lineares Generalizados. São Cristóvão, Brasil. 2015.

Termo	g.l.	Deviância	P (>Chi)
<i>Proporção de área foliar consumida</i>			
Abundância de formigas	1	3,001	0,08
Error	48	50,266	
Número espécies de formigas	1	1,725	0,189
Error	48	50,526	
<i>Proporção folhas com dano por sugador</i>			
Abundância de formigas	1	0,183	0,668
Error	48	28,021	
Número espécies de formigas	1	1,418	0,233
Error	48	26,785	

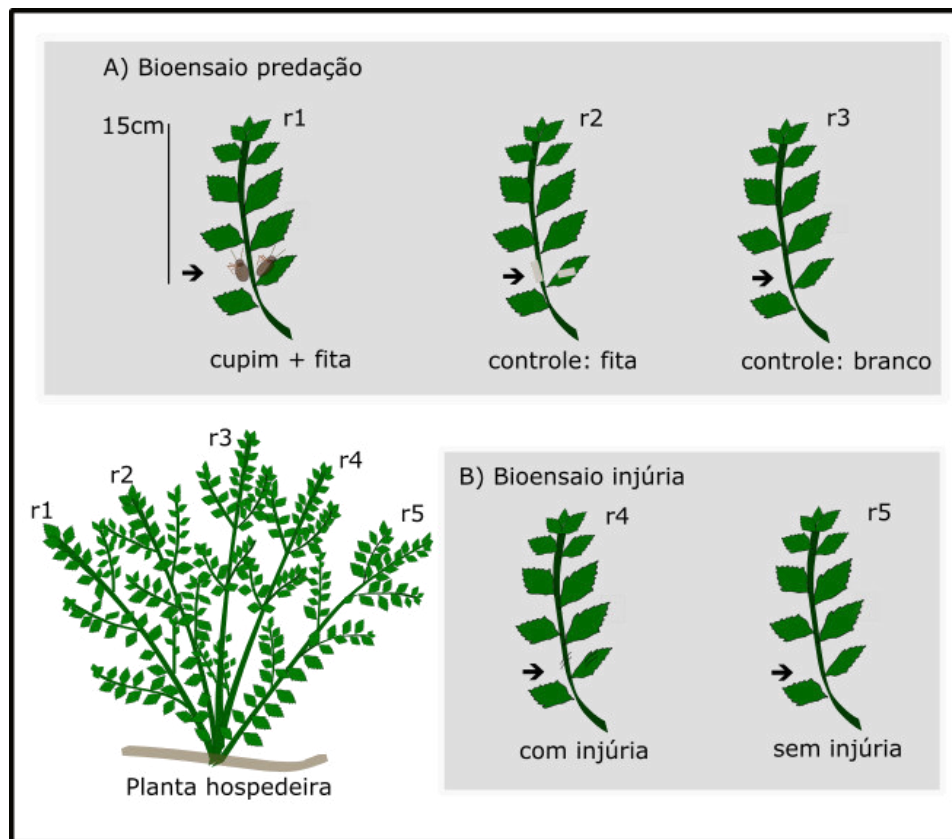


Fig. 1. Esquema dos bioensaios comportamentais simulando a presença de herbívoros e injúrias em *Turnera subulata*. (A) Testes com simulação de herbívoro: r_1 = ramo contendo os tratamentos com fita + cupim; r_2 = ramo com controle contendo apenas a fita adesiva; r_3 = ramo com controle branco (apenas caule ou folha). (B) Testes com simulação de injúria: r_4 = ramo com injúria localizada no caule ou na folha; r_5 = ramo sem injúria (controle: apenas caule ou folha). Em todos os casos, a formiga tinha opção de escolher entre o tratamento localizado no caule ou na folha. Cada planta representou uma repetição verdadeira de cada tratamento.

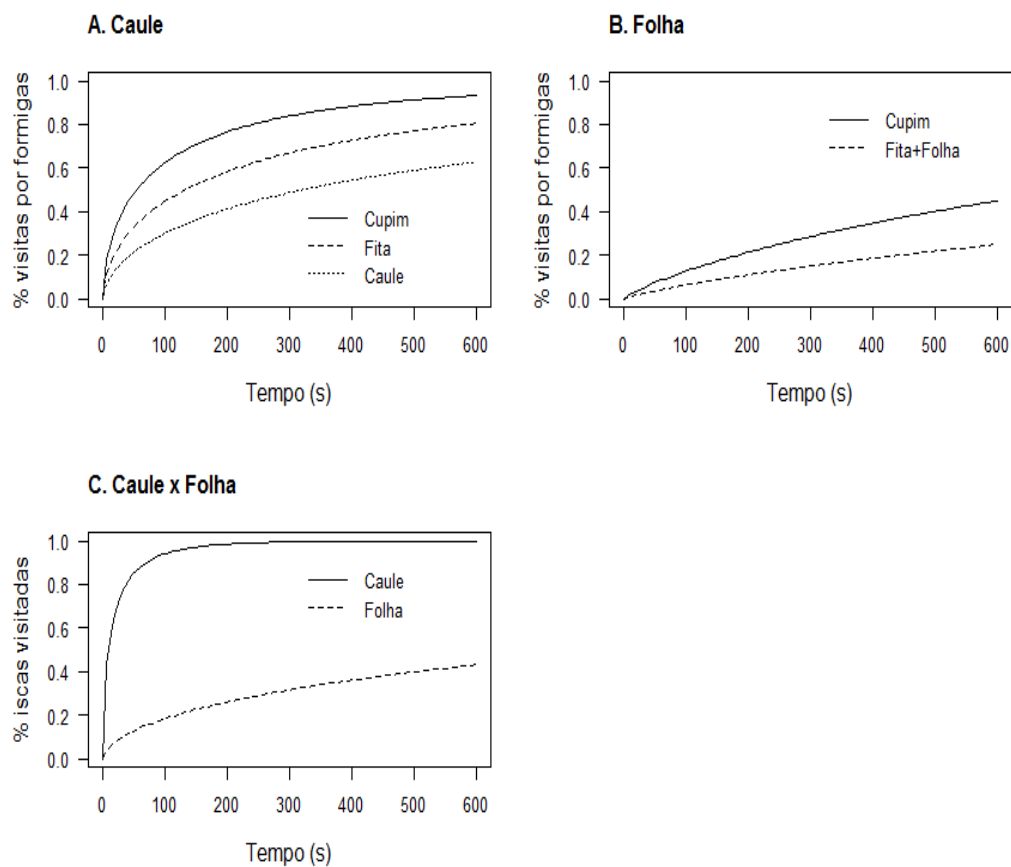


Fig. 2. Visitas das formigas ao longo do tempo em plantas de *Turnera subulata*. (A) Proporção de visitas de formigas no caule; e (B) proporção de visitas nas folhas de plantas de *T. subulata* submetidas aos tratamentos: iscas de cupim, e controles (fita dupla-face; estrutura da planta somente). (C) Proporção de visitas por formigas em iscas de cupins localizadas no caule e folha de *T. subulata*.

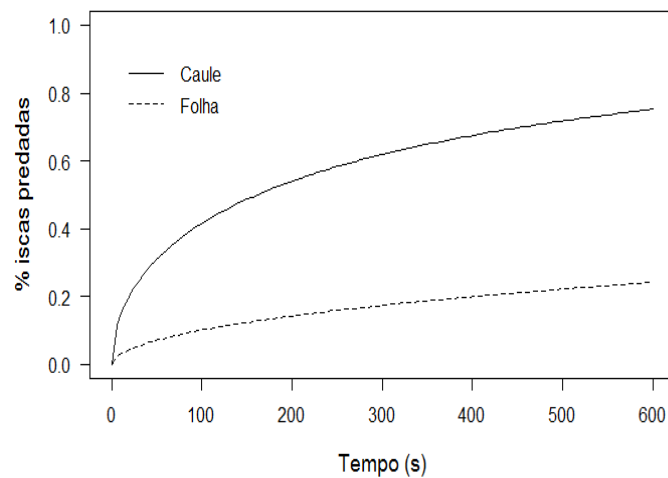


Fig. 3. Predação por formigas, ao longo do tempo, em caule e folhas de *Turnera subulata*.

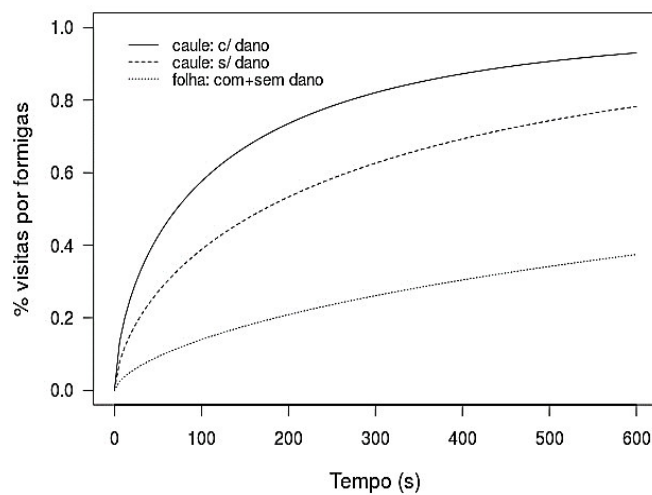


Fig. 4. Resposta das formigas, ao longo do tempo, em caule e folhas de *Turnera subulata*, submetidas a danos mecânicos.

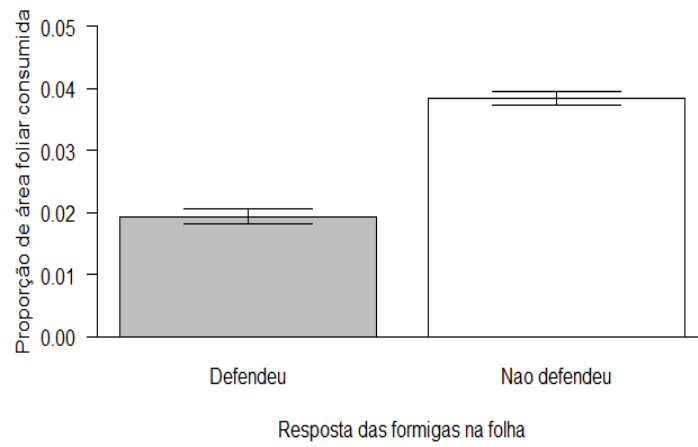


Fig. 5. Variação da proporção de área foliar consumida em indivíduos de *T. subulata* correlacionada à resposta das formigas.

DISCUSSÃO

Nossos resultados mostraram que a composição de espécies de formigas associadas a *T. subulata* variou espaço-temporalmente; e que as taxas de visitação e predação foram diferenciadas entre suas estruturas (Fig. 2-4). De forma geral, as taxas de herbivoria não apresentaram correlação com a defesa pontual das formigas (Tabela 4). Porém, uma série de resultados observados aqui, sugerem que a presença das formigas pode exercer um efeito positivo sobre suas plantas hospedeiras, uma vez que: (i) a maioria das formigas associadas são consideradas potenciais predadoras; (ii) realizaram patrulhamento e defesa (Tabela 1); e (iii) houve redução da proporção de área foliar consumida por mastigadores em folhas onde ocorreu predação pelas formigas (Fig. 5).

A ausência de abrigo fornecido pelas plantas hospedeiras em mutualismos facultativos, tende a produzir uma rápida mudança tanto na abundância quanto na composição das formigas associadas (Heil & Mckey, 2003). Tais variações nas assembleias de formigas, por sua vez, podem tornar o resultado das interações plantas-formigas dependentes de contexto (Bronstein, 1994; DiGusto et al., 2001; Chamberland & Holland, 2009). No presente estudo, a associação de *T. subulata* com formigas que realmente dependem dos recursos oferecidos pelas mesmas (ex. guilda de 'predadora e nectarífera') foi rara (13,6%); o que pode indicar uma possível baixa fidelidade das espécies de formigas associadas às plantas. Nossos resultados parecem suportar essa suposição, uma vez que a composição de espécies associadas à planta hospedeira variou espaço-temporalmente (Tabela 2). Além disso, nem todas as espécies associadas à *T. subulata* são predadoras eficientes (Tabela 1). Esta aparente baixa fidelidade de associação poderia criar janelas de oportunidade no espaço e tempo que facilitariam o ataque por insetos herbívoros; resultando em uma aparente ausência de correlação entre a defesa das formigas associadas e as injúrias causadas por herbivoria, como observado aqui na maioria dos casos (Tabela 3).

Por outro lado, deve-se considerar que o papel das formigas associadas às plantas pode incluir outros benefícios, além da redução da herbivoria. Estudos realizados com *T. ulmifolia*, pertencente ao mesmo gênero da planta estudada aqui, mostraram que associação com 25 espécies de formigas promove benefícios para planta hospedeira por meio da dispersão de

sementes (Cuautle & Rico-Gray, 2003; Cuautle et al., 2005). No entanto, a maior parte das formigas associadas a *T. subulata* (86.4%) são pertencentes à guilda de potenciais predadoras e duas dentre as espécies mais frequentes também foram as que mais eficientemente realizaram a predação, o que sugere um possível papel das formigas na defesa da planta hospedeira.

As formigas associadas à *T. subulata* realizaram visitação e predação mais rapidamente no caule do que nas folhas (Fig. 2 e 3). Este resultado pode explicar a ausência de danos de herbivoria no caule das plantas estudadas. A diferenciação na atividade das formigas entre tais estruturas pode estar relacionada à localização dos NEFs: essas estruturas estão posicionadas na base dos pecíolos foliares e para ter acesso à elas, as formigas não precisam necessariamente transitar nas superfícies foliares das plantas. Adicionalmente, tais resultados sugerem que as formigas parecem modular suas respostas de forma distinta aos sinais liberados (ex. vibração, visuais e olfativos) entre as estruturas da planta hospedeira. As formigas responderam de forma diferenciada aos sinais dos tratamentos controle (ex. 'controle branco' e 'fita') apenas no caule; enquanto na folha, as formigas diferenciaram apenas a presença do herbívoro ('cupim'). Isso indica que o sinal de vibração ou o cairomônio emitido pelos herbívoros - *únicos sinais que foram exclusivos para o tratamento simulando herbivoria* - sejam os principais estímulos para as formigas promoverem o patrulhamento nas folhas. Ou seja, apesar de não patrulhar a folha ativamente, as formigas são capazes de diferenciar quando esta possui herbívoros e assim realizar uma possível defesa. Esta hipótese pode ser suportada pela significativa redução da proporção de área foliar consumida por mastigadores nas plantas em que houve defesa nas folhas (Fig. 5). De fato, é amplamente reconhecido que a localização das presas pelos predadores é facilitada por uma série de sinais, incluindo aqueles provenientes da mastigação e movimentação de insetos herbívoros (ou seja, estímulos vibratórios) (Pfannenstiel et al., 1995; Cocroft & Rodrigues, 2005). Esta capacidade já foi notificada para formigas do gênero *Azteca*, que aumentam o patrulhamento quando ocorre a propagação de vibração foliar ocasionada por insetos intrusos (Dejean et al., 2009).

De forma semelhante, as formigas responderam aos sinais de injúria apenas no caule (Fig. 4). Estudos sugerem que as plantas investem em defesa preferencialmente nas partes de maior

valor (Teoria da Otimização Defensiva) e que apresentam maior probabilidade de ataque (Panda & Kush, 1995), assim como nos estágios fenológicos de maior susceptibilidade ao ataque de herbívoros (Fritz & Simms, 1992). No entanto, o caule possui relativamente menor valor nutritivo para herbívoros (ex. lignina e celulose) comparado às estruturas reprodutivas, raízes e folhas da planta (Fritz & Simms, 1992). Dessa forma, outros fatores devem estar promovendo esta maior reposta aos sinais do caule do que das folhas. Tal resultado poderia ter sido desencadeado por mecanismos distintos (atuando de forma isolada ou conjunta): (i) devido à importância da estrutura (caule) para as próprias formigas (ex. acesso aos nectários) e/ou (ii) devido à resposta diferenciada das formigas em relação aos voláteis emitidos pela planta. É amplamente reconhecido que plantas danificadas podem liberar voláteis (Paré & Tumlinson, 1997) como forma de defesa indireta, uma vez que podem por exemplo, atrair inimigos naturais (Turlings et al., 1995; Kessler & Baldwin, 2001). No entanto, pode ser que as formigas optem por não responder aos sinais das folhas. Desta forma, as formigas estariam respondendo com maior eficiência aos sinais de estruturas que são de maior utilidade para as mesmas, agindo como oportunistas. No entanto, os resultados apresentados aqui sugerem um papel defensivo das formigas. Assim, pode ser que as formigas não tenham percebido ou respondido a tais sinais pelo fato de que estes foram provenientes somente de injúria mecânica. Provavelmente os voláteis resultantes de injúria por herbivoria nas folhas poderiam ser mais prontamente respondidos pelas formigas.

Diversos estudos têm demonstrado que a atração de inimigos naturais ocorre de forma mais eficiente quando o sinal emitido pela planta atacada contém a presença de elicitores presentes na secreção do herbívoro (Gols et al., 1999; Bruinsma et al., 2009; Bruinsma et al., 2010; Bonaventure et al., 2011; Pinto-Zevallos et al., 2013). De fato, nossos resultados sugerem que mesmo respondendo de maneira mais significativa aos sinais do caule, as formigas parecem ser capazes de defender a folha quando existe a presença do herbívoro (Fig 2B). Estudos futuros focando nos mecanismos responsáveis por esta diferenciação de defesa entre partes da planta, podem contribuir para o entendimento do padrão observado aqui.

Este é o primeiro estudo que descreve a fauna de formigas associadas e seu papel

defensivo sobre *T. subulata*. Estudos manipulativos controlando a presença de formigas ao longo da fenologia da planta hospedeira podem auxiliar no entendimento da interação entre tais organismos. Uma vez que interações mutualísticas podem exercer forte influência sobre as comunidades (Rico-Gray & Oliveira, 2007; Geange et al., 2011) tais estudos podem elucidar aspectos evolutivos e de estruturação de comunidades sob influência das interações facultativas planta-formigas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos colegas da Clínica Fitossanitária (UFS) pela ajuda em campo e aos gerentes do EVA/UFS pelo suporte logístico. O CNPq financiou esta pesquisa concedendo auxílio a APAA e LB (PQ 306923/2012-2 e 484823/2013-2, respectivamente). PFC recebeu bolsa de pós-doutorado (CNPq/FAPITEC-SE 302246/2014-2). NGC e CSA receberam bolsas de mestrado (CAPES).

REFERÊNCIAS

- Arbo, M.M., 2013. Turneraceae, in: Flora de Sergipe. pp. 533–459.
- Arbo, M.M., 2005. Estudios sistemáticos en Turnera (Turneraceae). III Series Anomalae y Turnera. Bonplandia 14, 115–318.
- Assunção, M.A., Torezan-Silingardi, H.M., Del-Claro, K., 2014. Do ant visitors to extrafloral nectaries of plants repel pollinators and cause an indirect cost of mutualism? Flora - Morphol. Distrib. Funct. Ecol. Plants 209, 244–249.
- Baroni-Urbano, C., Andrade, M.L., 2007. The ant tribe Dacetini: limits and constituent genera, with descriptions of new species (Hymenoptera, Formicidae). Ann. del Mus. Civ. di Stor. Nat. “Giacomo Doria” 95, 1–191.
- Beattie, A.J. (1985), 1985. The Evolutionary Ecology Ant–Plant Mutualisms. Cambridge, MA.
- Bolton, B., 2003. Synopsis and classification of Formicidae. Mem. Am. Entomol. Inst. 71, 1–370.
- Bolton, B., 1994. Identification guide to the ant genera of the world. Cambridge, MA.
- Bonaventure, G., VanDoorn, A., Baldwin, I.T., 2011. Herbivore-associated elicitors: FAC signaling and metabolism. Trends Plant Sci. 16, 294–299.
- Bronstein, J.L., 2009. The evolution of facilitation and mutualism. J. Ecol. 97, 1160–1170.
- Bronstein, J.L., 1994. Conditional outcomes in mutualistic interactions. Trends Ecol. Evol. 9, 214–217.
- Brown Jr, W.L., 2000. Ants. Standard methods for measuring and monitoring biodiversity, in: Agosti, D., Majer, J., Alonso, L.E., Schultz, T.R. (Eds.), Ants. Standard Methods for Measuring and Monitoring Biodiversity. Washington and London, pp. 45–79.
- Bruinsma, M., Posthumus, M.A., Mumm, R., Mueller, M.J., Van Loon, J.J.A., Dicke, M., 2009. Jasmonic acid-induced volatiles of Brassica oleracea attract parasitoids: Effects of time and dose, and comparison with induction by herbivores. J. Exp. Bot. 60, 2575–2587.
- Bruinsma, M., van Loon, J.J.A., Dicke, M., 2010. Increasing insight into induced plant defense mechanisms using elicitors and inhibitors. Plant Signal. Behav. 5, 271–4.

- Byk, J., Del-Claro, K., 2011. Ant-plant interaction in the Neotropical savanna: Direct beneficial effects of extrafloral nectar on ant colony fitness. *Popul. Ecol.* 53, 327–332.
- Chamberland, S.A., Holland, J.N., 2009. Quantitative synthesis of context dependency in ant – plant protection mutualisms 90, 2384–2392.
- Cocroft, R.B., Rodrigues, R.L., 2005. The Behavioral Ecology of Insect Vibrational Communication. *Bioscience* 55, 323–334.
- Cuautle, M., Rico-Gray, V., 2003. The effect of wasps and ants on the reproductive success of the extrafloral nectaried plant *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). *Funct. Ecol.* 17, 417–423.
- Cuautle, M., Rico-Gray, V., Diaz-Castelazo, C., 2005. Effects of ant behaviour and presence of extrafloral nectaries on seed dispersal of the Neotropical myrmecochore *Turnera ulmifolia* L. (Turneraceae). *Biol. J. Linn. Soc.* 86, 67–77.
- Dejean, A., Grangier, J., Leroy, C., 2009. Predation and aggressiveness in host plant protection : a generalization using ants from the genus *Azteca*. *Naturwissenschaften* 96, 57–63.
- Dicke, M., Van Beek, T.A., Posthumus, M.A., Ben Dom, N., Van Bokhoven, H., Groot, A., 1990. Isolation and identification of volatile kairomone that affects acarine predator-prey interactions: Involvement of host plant in its production. *J. Chem. Ecol.* 16, 381–396.
- DiGusto, B., Anstett, G.M., Dounias, E., McKey, D.B., 2001. Variation in the effectiveness of biotic defence: the case of an opportunistic ant-plant protection mutualism. *Oecologia* 129, 367–375.
- Fritz, R.S., Simms, E.L., 1992. Plant Resistance to Herbivores and Pathogens. *Ecology, Evolution and Genetics*. The University of Chicago Press, Chicago and London.
- Geange, S.W., Pledger, S., Burns, K.C., Shima, J.S., 2011. A unified analysis of niche overlap incorporating data of different types. *Methods Ecol. Evol.* 2, 175–184.
- Gols, R., Posthumus, M.A., Dicke, M., 1999. Jasmonic acid induces the production of gerbera volatiles that attract the biological control agent *Phytoseiulus persimilis*. *Entomol. Exp. Appl.* 93, 77–86.
- Heil, M., 2011. Nectar : generation , regulation and ecological functions. *Trends Plant Sci.* 16, 191–200.
- Heil, M., 2008. Indirect defence via tritrophic interactions. *New Phytol.* 178, 41–61.

- Heil, M., Mckey, D., 2003. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 34,425-53.
- Kessler, A., Baldwin, I.T., 2001. Defensive Function of Herbivore-Induced Plant Volatile Emissions in *Nature. Science* 291, 2141–2145.
- Moreira, V.S.S., Del-Claro, K., 2005. The Outcomes of an Ant-Treehopper Association on *Solanum lycocarpum* St . Hill: Increased Membracid Fecundity and Reduced Damage by Chewing Herbivores. *Neotrop. Entomol.* 34, 881–887.
- Ness, J.H., 2006. A mutualism ' s indirect costs: the most aggressive plant bodyguards also deter pollinators. *Oikos* 113, 506–514.
- Oliveira, P.S., Brandão, C.R.F., 1991. The ant community associated with extrafloral nectaries in the Brazilian cerrados. In: Cutle, D.F., Huxley, C.R. (Eds.), *Ant-Plant Interactions*. Oxford University Press, Oxford, p. 601.
- Oliveira, P.S., Oliveira Filho, A.T., Cintra, R., 1987. Ant foraging on ant-inhabited *Triplaris* (Polygonaceae) in western Brazil: a field experiment using live termite-baits. *J. Trop. Ecol.* 3, 193–200.
- Oliveira, P.S., Rico-Gray, V., Días-Castelazo, C., Castillo-Guevara, C., 1999. Interaction between ants, extrafloral nectaries and insect herbivores in Neotropical coastal sand dunes: herbivore deterrence by visiting ants increases fruit set in *Opuntia stricta* (Cactaceae). *Funct. Ecol.* 13, 623–631.
- Panda, N., Kush, G.S., 1995. Host plant resistance to insects. Cab Interantional, Manila.
- Paré, P.W., Tumlinson, J.H., 1997. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiologists* 121,325-331.
- Pfannenstiel, R.S., Hunt, R.E., Yeargan, K. V., 1995. Orientation of a hemipteran predator to vibrations produced by feeding caterpillars. *J. Insect Behav.* 8, 1–9.
- Piacente, S., Camargo, E., Zampelli, A., Gracioso, J.S., Brito, A.R., Pizza, C., Villegas, W., 2002. Flavonoids and arbutin from *Turnera diffusa*. *Z Naturforsch C* 57: 983-985. *Z Naturforsch C* 57, 983–985.
- Pinto-Zevallos, D.M., Martins, C.B.C., Pellegrino, A.C., Zarbin, P.H.G., 2013. Compostos orgânicos

- voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros. *Quim. Nova* 36, 1395–1405.
- R Development Core Team, 2015. R: A language and environment for statistical computing.
- Rico-Gray, V., Oliveira, P.S., 2007. *The Ecology and Evolution of Ant-Plant Interactions*. University of Chicago Press.
- Salazar-Rojas, B., Rico-Gray, V., Canto, A., Cuautle, M., 2012. Seed fate in the myrmecochorous Neotropical plant *Turnera ulmifolia* L., from plant to germination. *Acta Oecologica* 40, 1–10.
- Stanton, M.L., Palmer, T.M., 2011. The high cost of mutualism : effects of four species of East African ant symbionts on their myrmecophyte host tree. *Ecology* 92, 1073–1082.
- Strauss, S.Y., Zangerl, A.R., 2002. Plant-insect interactions in terrestrial ecosystems. In: Herrera CM, Olle P (eds) *Plant animal interactions: An Evolutionary Approach*. pp 77–106
- Torres-Hernández, L., Rico-Gray, V., Guevara, C.C., Vergara, J.A., 2000.) Effect of nectar-foraging ants and wasps on the reproductive fitness of *Turnera ulmifolia* (Turneraceae) in a coastal sand dune in Mexico.. *Acta Zool. Mex.* 21, 13–21.
- Turlings, T.C.J., Loughrin, J.H., McCall, P.J., Rose, U.S.R., Lewis, W.J., Tumlinson, J.H., 1995. How caterpillar-damaged plants protect themselves by attracting. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 4169–4174.
- Wilson, E.O., 1971. *The Insects Societies*. Belknap Press, Cambridge, MA.

CAPÍTULO 2

Papel das formigas associadas ao longo da fenologia de *Turnera subulata* (Turneraceae): custos ou benefícios para a planta hospedeira?

Nayara G. Cruz; Camilla S. Almeida; Leandro Bacci; Paulo F. Cristaldo; Alisson S. Santana; Alexandre P. Oliveira; Efrem J. M. Ribeiro; Marcos L. Rocha & Ana P. A. Araújo

RESUMO. A defesa indireta de plantas através da associação com formigas nem sempre apresenta um balanço benéfico para os organismos envolvidos na interação. *Turnera subulata* é uma planta arbustiva que possui nectários extraflorais e normalmente encontra-se em associação com formigas. Aqui analisamos o balanço custos/benefícios para *T. subulata* associada com formigas. Testamos as hipóteses de que as formigas associadas: (i) têm efeito positivo no crescimento vegetativo (tamanho da planta) e reprodutivo (produção de flores e frutos); (ii) reduzem o número de indivíduos e danos por herbívoros (sugadores e mastigadores); e (iii) inibem a presença de visitantes da planta. Experimento foi conduzido em São Cristóvão-SE, ao longo dos estágios fenológicos da planta. Foram estabelecidas 30 parcelas contendo os tratamentos: com ($N = 15$) e sem formigas ($N = 15$). Cada unidade experimental foi constituída por quatro plantas, totalizando 120 plantas ($N = 60/\text{tratamento}$). As avaliações do crescimento vegetativo, investimento reprodutivo, taxas de herbivoria e visitantes florais, foram realizadas em todas as plantas, a cada três dias, durante três meses. Os dados foram analisados utilizando modelos lineares mistos. De forma geral, no estágio de maturação da planta, houve um *trade-off* entre crescimento e reprodução, o qual foi positivo apenas para as plantas na presença de formigas. Plantas com formigas apresentaram menor altura; no entanto investiram em maior número de flores e frutos quando comparadas às plantas sem formigas. Durante o estágio de inflorescência o número de herbívoros sugadores foi maior na ausência de formigas. Ao final do experimento, a proporção de folhas com danos causados por herbívoros (mastigadores e sugadores) não variou com a presença/ausência de formigas. A presença de formigas reduziu o número de visitantes das plantas. A associação com formigas resulta em custos para a planta hospedeira, no entanto, estes parecem ser compensados pelo papel defensivo das formigas. Na ausência de formigas, outros visitantes, que também utilizam nectários extraflorais, parecem compensar as defesas indiretas na planta. Nossos resultados ressaltam que as interações planta-formigas são complexas e dependentes do contexto ecológico. Além disso, sugerem que *T. subulata* exerce um papel chave nas interações locais.

Palavras-chave: defesa indireta de planta, herbivoria, nectários extraflorais.

INTRODUÇÃO

Interações ecológicas são complexas (Pires & Del-Claro, 2014) e apresentam resultados dinâmicos para as partes envolvidas, dependendo do contexto ecológico no qual estão inseridas (Bronstein, 1998; 1994). Nas interações planta-formigas, por exemplo, mesmo quando há benefícios mútuos, também existem custos ecológicos e fisiológicos para as plantas hospedeiras (Bronstein, 1994; Rudgers & Strauss, 2004). Uma vez que plantas realizam constantes *trade-offs* na alocação diferencial de energia para suas atividades (Herms & Mattson, 1992), o investimento em recursos atrativos para as formigas pode comprometer outros atributos da planta. Além disso, estudos têm demonstrado que, se por um lado, a associação com formigas pode conferir benefícios às plantas hospedeiras [ex.: redução da herbivoria (Rosumek et al., 2009), aumento do crescimento (Kersch & Fonseca, 2005) e reprodução da planta (Cuautle & Rico-Gray, 2003)]; em outros casos estas associações podem ser desnecessárias ou mesmo prejudiciais às plantas [ex.: redução de visitantes florais (Pereira & Trigo, 2013) e baixa atividade defensiva das formigas (Nogueira et al., 2012)]. Desta forma, o balanço final dos custos/benefícios envolvidos nas interações planta-formigas pode nem sempre ser favorável para as partes envolvidas (Bronstein, 1994).

Um dos principais benefícios para as plantas hospedeiras em associação com formigas consiste na redução das taxas de herbivoria (Rico-Gray & Oliveira, 2007) com consequente incremento no sucesso vegetativo e reprodutivo (Kersch & Fonseca, 2005; Nascimento & Del-Claro, 2010). A fenologia da planta hospedeira exerce um papel modulador na susceptibilidade ao ataque de herbívoros (Vilela et al., 2014). Ao longo de seus estágios fenológicos, plantas precisam alocar energia para defesa e demais processos fisiológicos (ex.: *trade-off* crescimento x reprodução) (Strauss et al., 2002). A fim de balancear os gastos energéticos, plantas tendem a concentrar suas toxinas principalmente em partes mais valiosas (relacionadas ao *fitness*) e/ou que possuem maior probabilidade de ataque em virtude de seu elevado valor nutricional (Mckey, 1974). No caso da defesa indireta (ex. associação com formigas), a fenologia da planta hospedeira também pode representar um mecanismo modulador dos resultados da interação

(Lange et al., 2013), uma vez que a atividade dos nectários extraflorais (NEFs) tende a ser variável ao longo dos estágios fenológicos para a maioria das espécies de plantas com tais estruturas (Korndörfer & Del-Claro, 2006; Oliveira & Freitas, 2004). Assim, ao longo da fenologia das plantas podem haver variações na taxa de visitação por formigas (Chamberlain & Nathaniel Holland, 2009; Dáttilo et al., 2013; Lange et al., 2013; Rudgers & Strauss, 2004), o que poderia gerar uma dependência de contexto ecológico para o balanço final resultante da interação plantas-formigas.

Variações nos resultados de interações mutualísticas são mais comuns em associações facultativas do que nas obrigatórias. Nas interações planta-formigas, relações facultativas ocorrem quando as plantas não oferecem local para nidificação e por isso não são regularmente ocupadas por colônias de formigas (Webber et al., 2007). Estas condições resultam em associações menos íntimas e específicas (Heil & McKey, 2003), onde várias espécies de formigas podem estar associadas a uma única planta hospedeira (Schemske, 1982). O gênero *Turnera* L. (Turneraceae) possui espécies arbustivas que apresentam nectários extraflorais e sementes cobertas com elaiossomo (Arbo, 2013). *Turnera subulata* é encontrada em todo o Nordeste brasileiro (Arbo, 2005), ocorrendo em ambientes naturais e antropizados. No entanto, nenhum estudo até o momento, analisou o papel das formigas associadas no sucesso vegetativo e reprodutivo desta planta.

Neste estudo analisamos os custos e/ou benefícios da associação facultativa com formigas para *T. subulata*. Para isso, testamos as hipóteses de que as formigas associadas à *T. subulata*: (i) têm efeito positivo no crescimento vegetativo (tamanho da planta) e no sucesso reprodutivo da planta (ex.: produção de flores e frutos); (ii) reduzem o número de herbívoros (ex. sugadores e mastigadores) associados, bem como a herbivoria; e (iii) repelem visitantes da planta hospedeira. Experimento manipulativo foi conduzido em campo a fim de controlar a presença/ausência de formigas ao longo dos estágios fenológicos da planta hospedeira.

MATERIAL E METÓDOS

Área de estudo e cultivo da planta hospedeira

O estudo foi realizado no Espaço de Vivência Agroecológica da Universidade Federal de Sergipe (UFS) (10°55'35"S, 37°6'14"O), localizada no município de São Cristóvão, Sergipe, Brasil. O clima da região é caracterizado como tropical seco e úmido (Aw), de acordo com o Sistema de Classificação do Clima Köppen (Pidwirny, 2011). O experimento foi conduzido de abril a julho/2015, que apresentou uma precipitação média de 6,3mm/dia.

Sementes de *T. subulata* foram semeadas em bandeja de isopor separadas por células (1 semente/célula), com substrato contendo uma mistura de húmus de minhoca com areia (50:50). As plantas foram cultivadas em casa de vegetação, com irrigação diária de 5 mL de água/célula por 45 dias. Após esse período, as mudas foram transplantadas para área experimental em condições de campo. Foram utilizadas apenas sementes maduras para a semeadura, as quais tiveram suas características de tamanho e coloração determinadas em testes prévios de germinação.

Delineamento experimental

O efeito da presença de formigas associadas sobre a fenologia da planta, herbivoria e presença de visitantes em *T. subulata* foi analisada em parcelas experimentais (120 x 120 cm; $N = 30$), em condições de campo. As parcelas foram estabelecidas em três fileiras contendo 10 parcelas, com distância de 50 cm entre parcelas vizinhas. Nestas parcelas, foram estabelecidos dois tratamentos distintos: com ($N = 15$) e sem acesso de formigas ($N = 15$), sendo estes distribuídos de forma inteiramente casualizada (Fig. 1A).

As parcelas contendo o tratamento ‘sem formigas’ foram delimitadas por barreira física (quadrados de vidro transparente: 120 x 120 x 30 cm de altura), enterrados 15 cm no solo. Cola entomológica inodora foi utilizada na borda superior do vidro para impedir a passagem das formigas. Testes preliminares demonstraram que esta metodologia impede totalmente a entrada

de formigas na parcela (pelo solo ou pelas partes superiores), não comprometendo o desenvolvimento das plantas.

No interior de cada parcela foram transplantadas 16 mudas de *T. subulata* com 45 dias de idade, equidistantes 30 cm entre si. A unidade experimental foi constituída pelas quatro plantas centrais de cada parcela, sendo as demais utilizadas como bordadura (Fig. 1B), totalizando 120 plantas analisadas ($N = 60$ plantas/ tratamento). O experimento foi conduzido ao longo de todo o período fenológico da planta hospedeira. Como a planta apresenta desenvolvimento contínuo, após o início do período reprodutivo há uma constante produção de flores e frutos. Assim, os estágios fenológicos foram definidos de acordo com a fase ascendente da produção de flores e frutos, sendo classificados em: vegetativo, floração, frutificação e maturação.

Avaliação do papel das formigas associadas à T. subulata

As avaliações do crescimento vegetativo, do investimento em reprodução e das taxas de herbivoria, foram realizadas a cada três dias nas plantas centrais de cada uma das 30 parcelas. Para avaliar o crescimento vegetativo de *T. subulata* foram quantificados a altura, o número de folhas e o número de ramificações (primárias e secundárias) das plantas. Já o sucesso reprodutivo foi mensurado por meio do número de flores e frutos.

A herbivoria foi mensurada pela contagem do número de herbívoros (sugadores e mastigadores) associados à planta ao longo dos estágios fenológicos. A quantificação foi realizada sempre no período da manhã, das 7h00 às 12h00. Ao final do experimento, os danos causados por herbivoria foram mensurados considerando-se a proporção de folhas atacadas (número total de folhas atacadas por mastigador ou sugador/número total de folhas).

Experimento de observação direta foi realizado a fim de quantificar o número de visitantes nas plantas em parcelas com e sem formigas. As avaliações foram realizadas em três períodos do dia: início da manhã (7-9h), meio do dia (11-13h) e fim da tarde (16-18h). Em cada parcela, todas as 16 plantas foram avaliadas simultaneamente durante cinco minutos; totalizando 150 min de observação/período do dia. A entomofauna encontrada (exceto herbívoros) foi quantificada e coletada com o auxílio de pinças, rede entomológica e sugador, sendo

acondicionada em frascos com álcool 80%. Os visitantes encontrados foram identificados e classificados de acordo com seus hábitos alimentares (nectarívoros, predadores e parasitoides) seguindo literaturas específicas (Demolin & Sá, 2010; Rafael et al., 2012).

Análises estatísticas

As hipóteses foram testadas no programa estatístico R (R Development Core Team, 2015) utilizando-se, em todos os casos, modelos lineares mistos, onde o fator fixo foi a fenologia da planta hospedeira. Os dados foram analisados considerando-se as médias das observações realizadas nas parcelas em cada estágio fenológico (30 parcelas x 4 estágios fenológicos; $N = 120$).

Em todos os testes, as variáveis explicativas foram: os estágios fenológicos da planta hospedeira (x_1), o tratamento: com ou sem formiga (x_2) e as interações entre esses fatores. Para avaliar a variação no crescimento vegetativo e reprodutivo da planta hospedeira foram construídos diferentes modelos múltiplos, utilizando as variáveis dependentes: a altura da planta, o número de folhas e de ramificações (principais e primárias). Já para verificar a variação no crescimento reprodutivo foram utilizadas as variáveis dependentes: número de flores e frutos. Para avaliar a variação nas taxas de herbivoria foram consideradas como variáveis dependentes: a proporção de folhas com danos por insetos sugadores e mastigadores, e o número de herbívoros associados às plantas (sugadores e/ou mastigadores). Para a variação no número de visitantes, foram construídos diferentes modelos utilizando-se como variáveis dependentes o número médio de indivíduos pertencentes às guildas: de nectarívoros, predadores e parasitoides. Nesse caso, o período do dia (x_3) também foi incluído como variável explicativa no modelo.

RESULTADOS

Foram encontradas 11 espécies de formigas associadas a *T. subulata*, pertencentes a oito gêneros e quatro subfamílias (Tabela 1). Considerando-se todos os períodos do dia e avaliações, as espécies de formigas mais frequentes foram *Dorymyrmex* sp.1 (43,2%), *Crematogaster evallans* (12,6%) e *Brachymyrmex* sp.1 (10,5%).

Foram encontradas 47 morfoespécies de herbívoros (mastigadores e sugadores), pertencentes a 23 famílias (Tabela 2). As morfoespécies de herbívoros mastigadores mais frequentemente associadas à *T. subulata* foram: larvas de *Euptoieta hegesia* (Nymphalidae) (43%) e *Acalymma* sp.1 (Chrysomelidae) (43%). Dentre os herbívoros sugadores, os mais frequentes organismos associados, considerando-se hábitos coloniais, foram Tetranychidae sp.1 e Aphididae sp.1; os quais ocorreram em 100% das avaliações. Já dentre os herbívoros sugadores de vida mais ativa, houve maior frequência de Thyreocoridae sp.1 (33%).

Foram registrados um total de 59 morfoespécies de visitantes associados à *T. subulata*, o quais compreenderam 23 famílias e três guildas: nectarívoro, parasitoide e predador (Tabela 3). O visitante nectarívoro mais frequente foi *Trigona spinipes* (Apidae) (15%). Dentre os predadores, houve maior frequência de Dolichopodidae sp.2 (53%), *Polybia liliaceae* (53%) e Dolichopodidae sp.1 (36%). Já entre os parasitoides, o mais frequente foi micro-Hymenoptera (não-identificado) (20%).

Crescimento vegetativo e investimento reprodutivo da planta hospedeira.

De forma geral, foi observado no período de maturação, um aparente *trade-off* entre crescimento e reprodução, o qual foi favorável apenas para as plantas associadas com formigas (Fig. 2 e 3). A altura média da planta hospedeira variou significativamente com o estágio fenológico, com a presença ou ausência de formigas e com a interação entre esses fatores (Tabela 4). Foram observadas diferenças entre os tratamentos apenas na fase de maturação, quando as plantas com formigas apresentaram menor altura comparada às plantas sem formigas ($P = 0,03$; Fig. 2). Por outro lado, os demais indicativos do crescimento vegetativo da planta hospedeira (números médios de folhas e de ramificações) mostraram relação significativa

apenas com os estágios fenológicos da planta, não apresentando variação com o tratamento e nem com a interação entre esses fatores (Tabela 4).

O investimento reprodutivo da planta hospedeira variou significativamente com os estágios fenológicos, não sendo influenciadas pelo tratamento (com ou sem formigas) quando este último fator foi analisado isoladamente (Tabela 4). Por outro lado, houve efeito significativo da interação entre estágio fenológico e o tratamento sobre o investimento reprodutivo (Tabela 4). Na fase de maturação, a presença de formigas resultou em aumento do investimento em reprodução pela planta hospedeira, uma vez que plantas com formigas apresentaram maior número médio de flores ($P = 0,035$) e de frutos ($P = 0,015$) quando comparado àquelas sem formigas (Fig. 3).

Número de herbívoros e danos na planta hospedeira.

O número de herbívoros mastigadores variou significativamente entre os estágios fenológicos da planta hospedeira (Tabela 5), sendo maior nos estágios de floração e frutificação quando comparado aos demais estágios ($P < 0,001$). Porém, não houve nenhum efeito significativo do tratamento e nem da interação entre esses fatores (Tabela 5). Já o número de herbívoros sugadores variou significativamente com todos os fatores analisados, apresentando maior abundância na ausência de formigas, durante o estágio de inflorescência (Tabela 5, Fig. 4).

Ao final do experimento, no estágio de maturação das plantas, as proporções de folhas com danos causados por herbívoros mastigadores e sugadores não variaram significativamente com a presença ou ausência de formigas nas parcelas (mastigador: $P = 0,27$; sugador: $P = 0,13$).

Efeito das formigas nos visitantes da planta hospedeira.

Houve variação significativa nos números de visitantes associados à planta hospedeira, considerando-se todos os fatores analisados (Tabela 6). De forma geral, os números de visitantes nectarívoros e predadores foram maiores nos estágios fenológicos mais avançados (frutificação e maturação) do que nos estágios iniciais ($P < 0,001$, em ambos os casos). Já o

número de parasitoides, foi maior nos períodos de floração e maturação quando comparado aos demais estágios. Quando comparada a frequência de visitantes ao longo do dia, nectarívoros foram mais abundantes no início da manhã (7-9h), enquanto predadores e parasitoides realizaram mais visitas no meio do dia ($P < 0,001$, em todos os casos).

Nos casos onde foi constatado efeito significativo do tratamento (com ou sem formiga), parcelas com formigas sempre apresentaram redução significativa no número de visitantes quando comparadas às parcelas sem formigas (Fig 5A-C). Para os visitantes nectarívoros (Fig. 5A) e predadores (Fig. 5B) esta redução foi significativa nos estágios de frutificação e maturação, apresentando o mesmo padrão em todos os períodos do dia (Fig. 5A-B). Já para parasitoides, não houve um padrão claro de visitação entre tratamentos, hora do dia e períodos fenológicos (Fig. 5C).

Tabela 1. Espécies/morfoespécies de formigas associadas a *Turnera subulata* (para detalhes ver *Material & Métodos*). Março a junho/2015, São Cristóvão, Sergipe.

Subfamília	Gênero	Espécie/ morfoespécie
Dolichoderinae	<i>Dorymyrmex</i>	<i>Dorymyrmex</i> sp.1
Formicinae	<i>Brachymyrmex</i>	<i>Brachymyrmex</i> sp.1
	<i>Camponotus</i>	<i>C. atriceps</i>
		<i>C. blandus</i>
		<i>C. melanoticus</i>
Myrmicinae	<i>Crematogaster</i>	<i>C. evallans</i>
		<i>C. obscurata</i>
	<i>Solenopsis</i>	<i>S. invicta</i>
	<i>Pseudomyrmex</i>	<i>P. simplex</i>
	<i>Wasmannia</i>	<i>W. auropunctata</i>
Ponerinae	<i>Neoponera</i>	<i>N. villosa</i>
Total		11

Tabela 2. Número de morfoespécies de herbívoros mastigadores e sugadores associados a *Turnera subulata* (para detalhes ver *Material & Métodos*). Março a junho/2015, São Cristóvão, Sergipe.

Guilda	Ordem	Família	Fase do ciclo de vida	Número de morfoespécie
Mastigador	Coleoptera	Bruchidae	adulto	1
		Chrysomelidae	adulto	5
		Curculionidae	adulto	3
	Diptera	Tephritidae	larva	1
	Lepidoptera	Hesperiidae	larva	1
		Nymphalidae	larva	2
		Papilionidae	larva	1
		Megalopygidae	larva	1
	Orthoptera	Gryllidae	ninfa	2
Sugador	Hemiptera	Aethalionidae	adulto	1
		Aphididae	adulto/imaturo	1
		Alydidae	adulto	2
		Cicadellidae	adulto	5
		Coreidae	adulto	1
		Dactylopiidae	adulto	1
		Lygaeidae	adulto	1
		Membracidae	adulto	2
		Miridae	adulto	3
		Pentatomidae	adulto	4
		Pyrrhocoridae	adulto	3
		Thyreocoridae	adulto	4
		Tingidae	adulto	1
	Trombidiformes	Tetranychidae	adulto/imaturo	1
Total				47

Tabela 3. Número de morfoespécies visitantes associados a *T. subulata* (para detalhes ver *Material & Métodos*). Março a junho/2015, São Cristóvão, Sergipe.

Guilda	Ordem	Família	Fase do ciclo de vida	Número de morfoespécie
Nectarívoro	Diptera	Syrphidae	adulto	3
		Hymenoptera	adulto	4
	Lepidoptera	Megachilidae	adulto	1
		Mutillidae	adulto	3
		Nymphalidae	adulto	3
		Papilionidae	adulto	1
		Pieridae	adulto	1
		Hesperiidae	adulto	2
		_*	adulto	3
		Predador	Diptera	Syrphidae
Coleoptera	Cicindelidae	adulto	1	
	Coccinellidae	adulto	2	
Diptera	Asilidae	adulto	2	
	Dolichopodidae	adulto	3	
Hemiptera	Reduviidae	adulto/ninfa	7	
Hymenoptera	Sphecidae	adulto	3	
	Vespidae	adulto	10	
Parasitoide	Mantodea	Mantidae	ninfa	1
	Hymenoptera	Brachonidae	adulto	2
		Chalcididae	adulto	2
		Ichneumonidae	adulto	1
		Scoliidae	adulto	1
		_*	adulto	2
Total				59

Tabela 4. Variação do crescimento vegetativo e investimento reprodutivo de *T. subulata* em função dos estágios fenológicos da planta hospedeira, do tratamento (com e sem formiga) e da interação entre esses fatores. Análises de deviance, modelos mistos.

Variável resposta	Fonte	g.l. numer.	g.l. denom.	F	P
<i>Crescimento vegetativo</i>					
Altura média das plantas	Estágio fenológico (EF)	3	84	394,25	< 0,001
	Tratamento (T)	1	28	5,47	0,026
	EF x T	3	84	3,48	0,019
Número médio de folhas	Estágio fenológico (EF)	3	84	249,09	< 0,001
	Tratamento (T)	1	28	3,82	0,060
	EF x T	3	84	2,41	0,071
Número médio de ramificações	Estágio fenológica (F)	3	84	565,06	< 0,001
	Tratamento (T)	1	28	1,412	0,244
	EF x T	3	84	1,409	0,245
<i>Investimento reprodutivo</i>					
Número médio de flores	Estágio fenológico (EF)	3	84	66,73	< 0,001
	Tratamento (T)	1	28	0,03	0,984
	EF x T	3	84	5,94	0,001
Número médio de frutos	Estágio fenológico (EF)	3	84	55,76	0,001
	Tratamento (T)	1	28	0,10	0,754
	EF x T	3	84	6,27	<0,001

Tabela 5. Variação do número de herbívoros das guildas de mastigadores e sugadores associados à *T. subulata* em função dos estágios fenológicos da planta hospedeira, do tratamento (com e sem formiga) e da interação entre esses fatores. Análises de deviance, modelos mistos.

Variável resposta	Fonte	g.l. numer.	g.l. denom.	F	P
Guilda de mastigadores	Estágio fenológico (EF)	3	460	27,25	< 0,001
	Tratamento (T)	1	9	1,69	0,193
	EF x T	3	460	2,40	0,067
Guilda de sugadores	Estágio fenológico (EF)	3	460	54,92	< 0,001
	Tratamento (T)	1	9	10,95	0,001
	EF x T	3	460	7,74	< 0,001

Tabela 6. Variação do número de visitantes de diferentes guildas em *T. subulata*, em função dos efeitos dos estágios fenológicos da planta hospedeira, do tratamento (com e sem formiga), do período do dia e suas interações. Análises de deviance, modelos mistos.

Variável resposta	Fonte	g.l. numer.	g.l. denom.	F	P
Número de nectarívoros	Estágio fenológico (EF)	3	83	201,71	< 0,001
	Tratamento (T)	1	83	16,34	< 0,001
	Período do dia (P)	2	1214	91,34	< 0,001
	EF x T	3	83	5,40	0,001
	EF x P	6	1214	15,40	< 0,001
	T x P	2	1214	0,51	0,597
	EF x T x P	6	1214	0,43	0,856
Número de predadores	Estágio fenológico (EF)	3	83	113,91	< 0,001
	Tratamento (T)	1	83	22,14	< 0,001
	Período do dia (P)	2	1214	41,93	< 0,001
	EF x T	3	83	5,66	0,001
	EF x P	6	1214	12,76	< 0,001
	T x P	2	1214	3,37	0,034
	EF x T x P	6	1214	1,05	0,386
Número de parasitoides	Estágio fenológico (EF)	3	83	43,20	< 0,001
	Tratamento (T)	1	83	10,09	0,002
	Período do dia (P)	2	1214	8,82	< 0,001
	EF x T	3	83	1,57	0,201
	EF x P	6	1214	5,12	< 0,001
	T x P	2	1214	3,72	0,024
	EF x T x P		1214	1,96	0,067

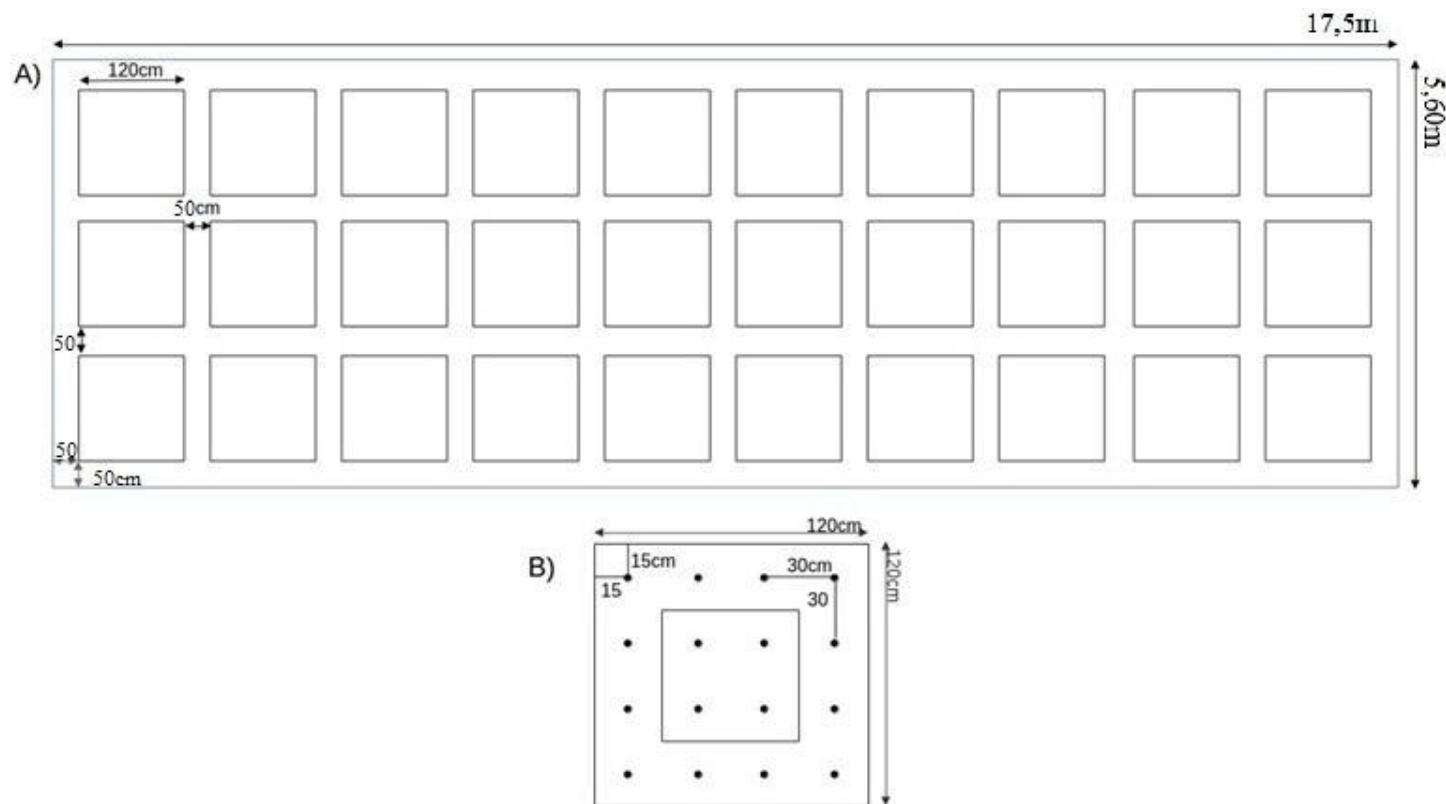


Fig. 1. (A) Esquema do desenho experimental onde parcelas contendo os tratamentos com e sem formigas foram dispostas de forma inteiramente casualizada. Tratamentos foram dispostos em 3 fileiras contendo 10 parcelas cada, distantes 50cm entre si. (B) Esquema de uma parcela contendo 16 plantas (representados por: ●) equidistantes a 30cm. Destaque para as 4 plantas centrais (quadrado central), as quais consistiram na unidade experimental avaliada. As demais plantas da parcela foram usadas como bordadura.

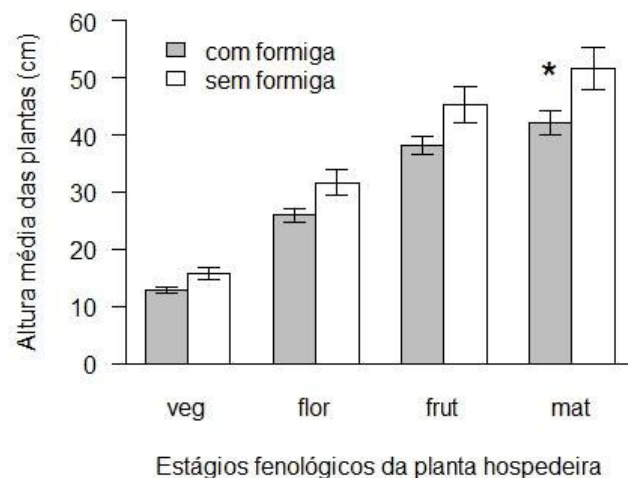


Fig. 2. Efeito da presença ou ausência de formigas associadas sobre o crescimento vegetativo (altura média [cm]) em diferentes estágios fenológicos de plantas de *T. subulata*. São Cristóvão, Sergipe, Brasil. 2015. Estágios fenológicos da planta: veg = vegetativo; flor = floração; frut = frutificação e mat = maturação.

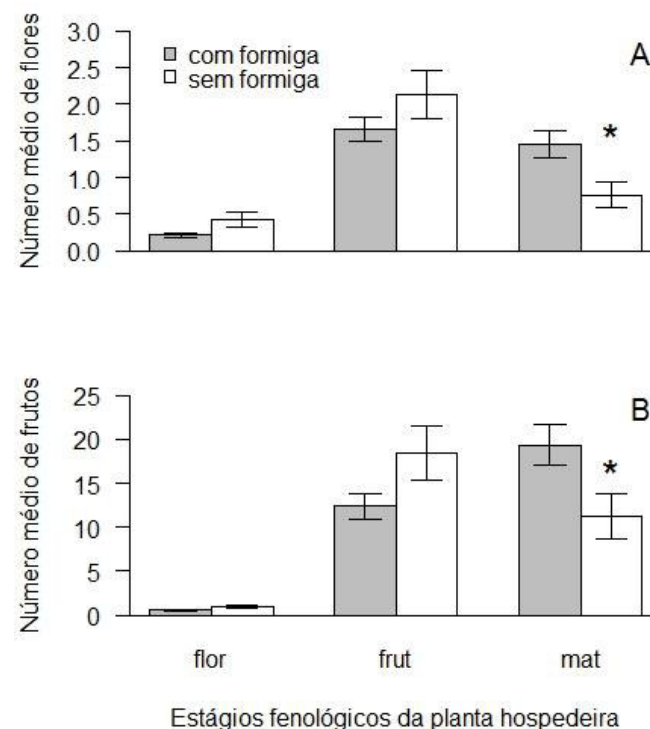


Fig. 3. Efeito da presença ou ausência de formigas associadas sobre o investimento reprodutivo em diferentes estágios fenológicos de plantas de *T. subulata*: **(A)** número médio de flores e **(B)** número médio de frutos/planta. São Cristóvão, Sergipe, Brasil. 2015. Estágios fenológicos da planta: veg = vegetativo; flor = floração; frut = frutificação e mat = maturação.

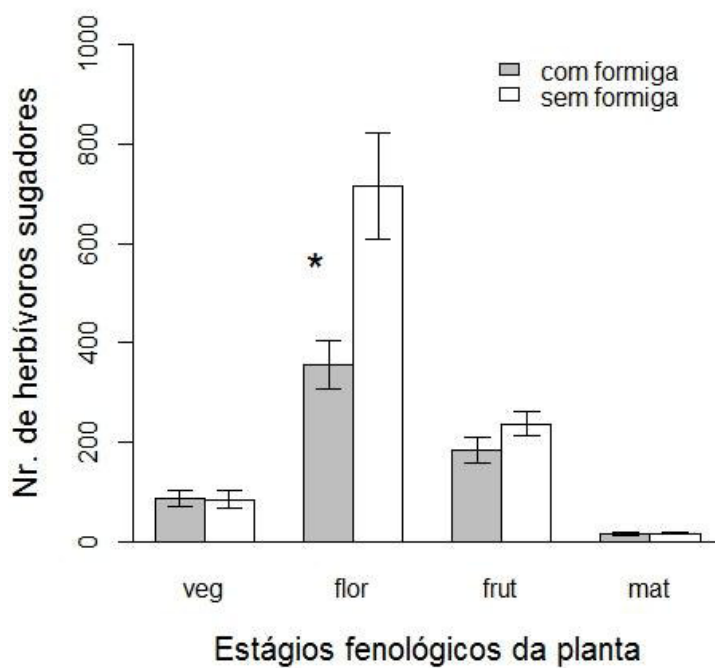


Fig. 4. Variação do número de herbívoros sugadores em plantas de *T. subulata* ao longo dos diferentes estágios fenológicos. São Cristóvão, Sergipe, Brasil. 2015. Estágios fenológicos da planta: veg = vegetativo; flor = floração; frut = frutificação e mat = maturação.

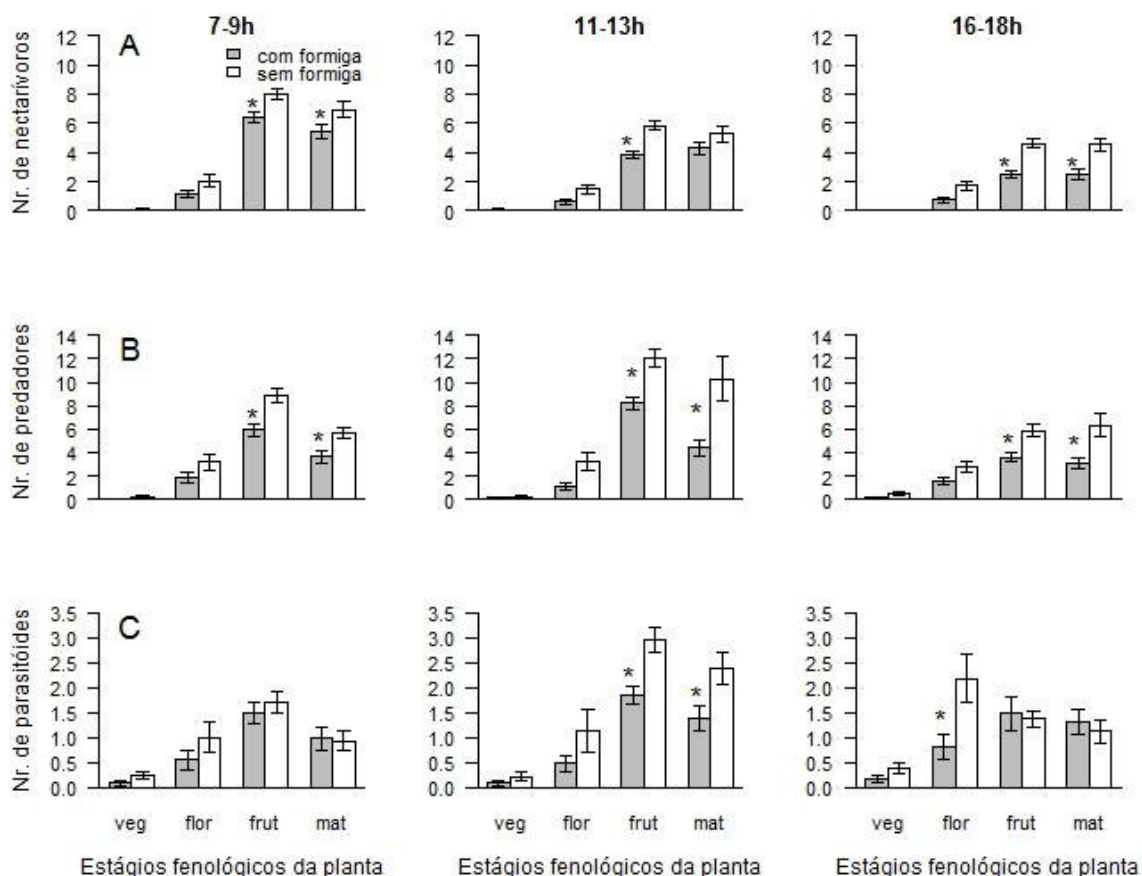


Fig. 5. Variação do número de visitantes em plantas de *T. subulata* ao longo dos diferentes estágios fenológicos da planta e dos períodos do dia (7-9h, 11-13h e 16-18h), em parcelas com presença ou ausência de formigas. **A)** Número médio de indivíduos da guilda de nectaríferos/parcela; **(B)** Número médio de indivíduos da guilda de predadores/parcela; **(C)** Número médio de indivíduos parasitoides/parcela. São Cristóvão, Brasil. 2015. Estágios fenológicos da planta: veg = vegetativo; flor = floração; frut = frutificação e mat = maturação.

DISCUSSÃO

Interações plantas-formigas – nas quais as plantas hospedeiras oferecem alimento (ex.: NEFs) e/ou abrigo e as formigas em troca conferem proteção (Fernández & Palacio, 2003) – nem sempre mostram um balanço positivo para ambas as partes envolvidas (Díaz-Castelazo et al., 2013; Kersch & Fonseca, 2005; Rudgers & Strauss, 2004; Silveira et al., 2007). Nossos resultados, de um modo geral, sugerem que o balanço final da associação de *T. subulata* com formigas é dependente de contexto (p. ex. estágio fenológico da planta) e que resulta em um *trade-off* (crescimento \times reprodução) positivo para a planta hospedeira.

Plantas podem apresentar *trade-offs* entre crescimento *versus* reprodução (Weiner et al., 2009), como observado aqui no estágio fenológico de maturação de *T. subulata*. Esse *trade-off* foi positivo para *T. subulata* na presença de formigas, onde mesmo sendo menores, as plantas investiram mais na produção de flores e frutos. A redução na altura final das plantas pode estar relacionada ao maior investimento na produção de néctar quando em contato com as formigas. De fato, estudos têm demonstrado que plantas que possuem NEFs podem aumentar a produção de néctar na presença de formigas, a fim de otimizar a defesa por estes insetos (Agarwal & Rastogi, 2009; Dáttilo et al., 2015). Em nosso trabalho, esse provável custo parece ter sido compensado pelo aumento do sucesso reprodutivo de *T. subulata*. Muitos estudos apontam que plantas defendidas por formigas podem aumentar seu investimento reprodutivo (Barton, 1986; Cuautle & Rico-Gray, 2003; Fleet & Young, 2000; Nascimento & Del-Claro, 2010; Oliveira et al., 1999; Vesprini et al., 2003). Tais estudos sugerem que a defesa realizada pelas formigas, pode resultar em redução dos danos por herbivoria, permitindo à planta um maior investimento em reprodução (Barton, 1986; Cuautle & Rico-Gray, 2003; Fleet & Young, 2000; Nascimento & Del-Claro, 2010; Oliveira et al., 1999; Vesprini et al., 2003).

No presente estudo, as plantas de *T. subulata* atraíram, além das formigas, uma ampla variedade de insetos associados, como potenciais polinizadores e inimigos naturais, os quais utilizam néctar como recurso principal ou alternativo (Rafael et al., 2012; Torres-Hernández et al., 2000). Embora as formigas associadas à *T. subulata* apresentem variação espaço-temporal e não sejam parceiras permanentes, estas tendem a realizar um patrulhamento contínuo nas

plantas (*ver* Capítulo I). Desta forma, pode-se supor que formigas induzam maior produção de néctar por *T. subulata* quando comparadas aos demais organismos associados às mesmas.

Aqui verificamos que o aumento do investimento reprodutivo da planta na presença das formigas foi evidente, mesmo considerando a redução significativa que as formigas causaram no número de visitantes. Dessa forma, nossos resultados revelam claramente que este maior investimento não foi decorrente da maior taxa de visitação por polinizadores ou da defesa realizada por outros inimigos naturais. Outros estudos também mostraram uma correlação negativa entre a presença de formigas e outros visitantes florais (Cuautle & Rico-Gray, 2003; Koptur et al., 2015; Torres-Hernández et al., 2000). No entanto, aqui, embora formigas tenham inibido o acesso de visitantes (incluindo possíveis polinizadores), ainda assim podem ter apresentado um papel decisivo no sucesso reprodutivo da planta hospedeira. Esta suposição pode ser suportada pelo fato de que, no estágio fenológico de floração, plantas com formigas apresentaram uma redução significativa no número de insetos sugadores associados. A efetividade dessa defesa realizada pelas formigas pode estar relacionada à sua capacidade de percepção e visitação em folhas quando estas apresentam herbívoros (*ver Capítulo I*). Uma vez que as formigas permanecem mais tempo na planta (p. ex. patrulhamento) do que os demais inimigos naturais, estas poderiam ter maior eficiência na redução de organismos sugadores de tamanho reduzido (p. ex. ácaros e pulgões), os quais foram os mais frequentes herbívoros sugadores encontrados na planta hospedeira. Assim, possivelmente a defesa significativa das formigas, justamente no início do estágio reprodutivo, pode ter contribuído para que as plantas apresentassem maior investimento em reprodução na presença do que na ausência de formigas. Isto pode ser suportado pelas observações de que a atividade de NEFs, para a maioria das espécies de plantas, tende a ser mais intensa na fase de floração (Korndörfer & Del-Claro, 2006; Oliveira & Freitas, 2004).

Nossos resultados corroboram estudos realizados com outra planta do mesmo gênero, *T. ulmifolia*, que também demonstraram o efeito das formigas no crescimento, reprodução e nas interações das plantas com visitantes florais (Cuautle & Rico-Gray, 2003; Cuautle et al., 2005; Torres-Hernández et al., 2000). Por outro lado, nossos resultados indicam que a interação

planta-formigas é complexa e que não pode ser analisada pontualmente. Além disso, ressalta que associações normalmente consideradas como mutualísticas devem ser analisadas focando não apenas na relação específica entre as duas partes envolvidas, mas que as interações paralelas que medeiam tais relações também devem ser consideradas. A princípio, a associação com formigas poderia indicar um balanço desfavorável para *T. subulata*, quando se consideram isoladamente: a redução na altura das plantas, as baixas variações nas taxas de herbivoria e de herbívoros associados; e a redução do número de visitantes nas plantas na presença das formigas. No entanto, quando esses fatores são analisados em conjunto e em um contexto mais amplo, o balanço da interação pode ser entendido de forma mais efetiva. O investimento das plantas na produção de néctar também resulta em interações com outros organismos que podem realizar defesa indireta e que, na ausência de formigas, também compensam os custos energéticos da planta. Assim, a aparente baixa defesa das formigas, pode ter sido mascarada pelo papel defensivo de outros organismos associados (ex. predadores e parasitoides) os quais foram aumentados na ausência de formigas.

Concluindo, o presente estudo mostrou que o investimento na produção de NEFs pode resultar em um balanço favorável para a planta hospedeira, o qual depende do seu estágio fenológico e de outros organismos associados. *Turnera subulata* pode ter papel chave na manutenção de interações locais, principalmente nas áreas antropizadas onde são amplamente distribuídas. Assim, os resultados desse estudo ajudam a elucidar mecanismos envolvidos em interações tróficas na complexa rede de interações envolvendo plantas-formigas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos colegas da Clínica Fitossanitária (UFS) pela ajuda nos trabalhos de campo e ao suporte logístico pelos gerentes do EVA/UFS. APAA e LB receberam suporte financeiro do CNPq (484823/2013-2; PQ 306923/2012-2, respectivamente). PFC recebeu bolsa de pós-doutorado do CNPq/FAPITEC-SE (302246/2014-2), e NGC e CSA receberam bolsa de mestrado da CAPES (PPEC/UFS).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agarwal, V.M., Rastogi, N., 2009. Spatiotemporal dynamics and plant-part preference patterns of the plant-visiting ants and the insect herbivores of sponge gourd plants. *J. Asia. Pac. Entomol.* 12, 57–66.
- Arbo, M.M., 2013. Turneraceae, in: *Flora de Sergipe*. pp. 533–459.
- Arbo, M.M., 2005. Estudios sistemáticos en *Turnera* (Turneraceae). III. Series Anomalaes y *Turnera*. *Bonplandia* 14, 115–318.
- Barton, A.M., 1986. Spatial variation in the effect of ants on an extrafloral nectary plant. *Ecology* 67, 495–504.
- Begon, M., Townsend, C.R., Harper, J.L., 2007. Natalidade, Mortalidade e História de Vida, in: *Ecologia: De Indivíduos a Ecossistemas*. Artmed, Porto Alegre, RS, pp. 89–128.
- Bronstein, J.L., 1998. The Contribution of Ant-Plant Protection Studies to Our Understanding of Mutualism I. *Biotropica* 30, 150–161.
- Bronstein, J.L., 1994. Conditional outcomes in mutualistic interactions. *Trends Ecol. Evol.* (Personal Ed. 9, 214–217.
- Chamberlain, S. a., Nathaniel Holland, J., 2009. Quantitative synthesis of context dependency in ant-plant protection mutualisms. *Ecology* 90, 2384–2392.
- Cuautle, M., Rico-Gray, V., 2003. The effect of wasps and ants on the reproductive success of the extrafloral nectaried plant *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). *Funct. Ecol.* 17, 417–423.
- Cuautle, M., Rico-Gray, V., Diaz-Castelazo, C., 2005. Effects of ant behaviour and presence of extrafloral nectaries on seed dispersal of the Neotropical myrmecochore *Turnera ulmifolia* L. (Turneraceae). *Biol. J. Linn. Soc.* 86, 67–77.
- Dáttilo, W., Aguirre, A., Flores-Flores, R.V., Fagundes, R., Lange, D., García-Chávez, J., Del-Claro, K., Rico-Gray, V., 2015. Secretory activity of extrafloral nectaries shaping multitrophic ant-plant-herbivore interactions in an arid environment. *J. Arid Environ.* 114, 104–109.
- Dáttilo, W., Guimarães, P.R., Izzo, T.J., 2013. Spatial structure of ant-plant mutualistic networks. *Oikos* 122, 1643–1648.
- Demolin, G.L., Sá, V.G.M., 2010. Apostila: taxonomia, nomenclatura e identificação de espécies, Universidade Federal De Minas Gerais Instituto De Ciências Agrárias.

- Díaz-Castelazo, C., Sánchez-Galván, I.R., Guimarães, P.R., Raimundo, R.L.G., Rico-Gray, V., 2013. Long-term temporal variation in the organization of an ant-plant network. *Ann. Bot.* 111, 1285–1293.
- Fernández, F., Palacio, E., 2003. Sistemática y filogenia de las hormigas: breve repaso a propuestas., in: *Introducción a las hormigas de la región Neotropical*. pp. 29–44.
- Fleet, R.R., Young, B.L., 2000. Facultative mutualism between imported fire ants (*Solenopsis invicta*) and a legume (*Senna occidentalis*). *Southwest. Nat.* 45, 289–298.
- Heil, M., McKey, D., 2003. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 34, 425–553.
- Hermes, D. a., Mattson, W.J., 1992. The dilemma of plants: To grow or defend. *Q. Rev. Biol.* 67, 283. doi:10.1086/417659
- Kersch, M.F., Fonseca, C.R., 2005. Abiotic factors and the conditional outcome of an ant-plant mutualism. *Ecology* 86, 2117–2126.
- Koptur, S., Jones, I.M., Pena, J.E., 2015. The influence of host plant extrafloral nectaries on multitrophic interactions: An experimental investigation. *PLoS One* 10, 1–18. doi:10.5061/dryad.47ct0.Funding
- Korndörfer, A.P., Del-Claro, K., 2006. Ant defense versus induced defense in *Lafoensia pacari* (Lythraceae), a myrmecophilous tree of the Brazilian Cerrado. *Biotropica* 38, 786–788.
- Lange, D., Dáttilo, W., Del-Claro, K., 2013. Influence of extrafloral nectary phenology on ant-plant mutualistic networks in a neotropical savanna. *Ecol. Entomol.* 38, 463–469.
- McKey, D., 1974. Adaptive patterns in alkaloid physiology. *Am. Soc. Nat.* 108, 305–320.
- Nascimento, E.A., Del-Claro, K., 2010. Ant visitation to extrafloral nectaries decreases herbivory and increases fruit set in *Chamaecrista debilis* (Fabaceae) in a Neotropical savanna. *Flora Morphol. Distrib. Funct. Ecol. Plants* 205, 754–756.
- Nogueira, A., Guimarães, E., Machado, S.R., Lohmann, L.G., 2012. Do extrafloral nectaries present a defensive role against herbivores in two species of the family Bignoniaceae in a Neotropical savannas? *Plant Ecol.* 213, 289–301.
- Oliveira, P.S., Freitas, A.V.L., 2004. Ant-plant-herbivore interactions in the neotropical cerrado savanna. *Naturwissenschaften* 91, 557–570.
- Oliveira, P.S., Rico-Gray, V., Díaz-Castelazo, C., Castillo-Guevara, C., 1999. Interaction between ants, extrafloral nectaries and insect herbivores in Neotropical coastal sand dunes: herbivore deterrence

- by visiting ants increases fruit set in *Opuntia stricta* (Cactaceae). *Funct. Ecol.* 13, 623–631.
- Pereira, M.F., Trigo, J.R., 2013. Ants have a negative rather than a positive effect on extrafloral nectaried *Crotalaria pallida* performance. *Acta Oecologica* 51, 49–53.
- Pidwirny, M., 2011. Köppen Climate Classification System [WWW Document]. URL <http://www.eoearth.org/view/article/162263>
- Pires, L.P., Del-Claro, K., 2014. Variation in the outcomes of an ant-plant system: fire and leaf fungus infection reduce benefits to plants with extrafloral nectaries. *J. Insect Sci.* 14, 84. doi:10.1093/jis/14.1.84
- R Development Core Team, 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Rafael, J.A., Melo, G.A.R., Carvalho, C.J.B. de, Casari, C., Constantino, R., 2012. Insetos do Brasil: diversidade e taxonomia. Holos Editora, Ribeirão Preto.
- Rico-Gray, V., Oliveira, P.S., 2007. Interações entre formigas e plantas com nectários extraflorais em um mosaico ambiental. The University of Chicago Press, Chicago.
- Rosumek, F.B., Silveira, F.A.O., De, F., De, N.P., Diniz, L., Oki, Y., Pezzini, F., Fernandes, G.W., Cornelissen, T., 2009. Ants on plants: a meta-analysis of the role of ants as plant biotic defenses. *Oecologia* 160, 537–549.
- Rudgers, J. a, Strauss, S.Y., 2004. A selection mosaic in the facultative mutualism between ants and wild cotton. *Proc. Biol. Sci.* 271, 2481–2488.
- Schemske, D.W., 1982. Ecological correlates of a neotropical mutualism: Ant assemblages at costus extrafloral nectaries. *Ecol. Soc. Am.* 63, 932–941.
- Silveira, U., Azambuja, B., Gonçalves, F., Gaiarsa, M.P., Gordon, P., 2007. Custos e benefícios da interação formigas - membracídeos (Insecta: Membracidae) para a planta hospedeira *Vismia japurensis* (Clusiaceae).
- Strauss, S.Y., Rudgers, J. a., Lau, J. a., Irwin, R.E., 2002. Direct and ecological costs of resistance to herbivory. *Trends Ecol. Evol.* 17, 278–285.
- Torres-Hernández, L., Rico Gray, V., Castillo-Guevara, C., Vergara, J.A., 2000. Effect of nectar-foraging ants on the reproductive fitness of *Turnera ulmifolia* (Turneraceae) in a coastal sand dune in Mexico. *Acta Zool. Mex.* 81, 13–21.
- Vesprini, J.L., Galetto, L., Bernardello, G., 2003. The beneficial effect of ants on the reproductive success

- of *Dyckia floribunda* (Bromeliaceae), an extrafloral nectary plant. Can. J. Bot. 81, 24–27.
- Vilela, A.A., Torezan-Silingardi, H.M., Del-Claro, K., 2014. Conditional outcomes in ant–plant–herbivore interactions influenced by sequential flowering. Flora - Morphol. Distrib. Funct. Ecol. Plants 209.
- Webber, B.L., Moog, J., Curtis, A.S.O., Woodrow, I.A.N.E., 2007. The diversity of ant – plant interactions in the rainforest understorey tree, *Ryparosa* (Achariaceae): food bodies, domatia, prostomata, and hemipteran trophobionts. Bot. J. Linn. Soc. 154, 353–371.
- Weiner, J., Campbell, L.G., Pino, J., Echarte, L., 2009. The allometry of reproduction within plant populations. Journal of Ecology 97, 1220-1233.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Formigas apresentam associações facultativas com *T. subulata*, uma vez que a composição de espécies associadas varia no espaço e tempo.
- As espécies de formigas associadas variam em relação à efetividade da defesa que realizam na planta. No entanto, de forma geral, as formigas parecem compensar danos causados por herbivoria e promovem maior sucesso reprodutivo da planta.
- Os benefícios dessa associação são dependentes do contexto ecológico, incluindo a variação na composição de espécies no tempo/espaço e o estágio fenológico da planta.
- O investimento energético de *T. subulata* na produção de nectários extraflorais pode ser compensado, não apenas pela associação com formigas, como também pela atração de inimigos naturais, como predadores e parasitoides.
- *Turnera subulata* pode ter papel chave na manutenção de interações locais, principalmente nas áreas antropizadas onde são amplamente distribuídas.